

TESIS DOCTORAL: AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO Y ROTURA PREMATURA DE MEMBRANAS PRETÉRMINO. IMPACTO DE LA AMNIOCENTESIS DIAGNÓSTICA EN LA CONDUCTA OBSTÉTRICA.

Director: Profesor Antonio González González. Catedrático de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

Doctorando: Daniel Abehsera Davó. F.E.A. Hospital Universitario La Paz.

Título	Página
I Introducción.	6 - 37
1.- Amenaza de parto pretérmino y rotura prematura de membranas pretérmino. Concepto, epidemiología, morbilidad y consecuencias socio-sanitarias, y etiopatogenia.	6 – 15
1.1.- Concepto de parto pretérmino y rotura prematura de membranas pretérmino.	6
1.2.- Epidemiología del parto pretérmino.	7
1.3.- Parto pretérmino: morbilidad y consecuencias socio-sanitarias.	9
1.4.- Etiopatogenia del parto pretérmino.	10
2.- Infección intraamniótica y parto pretérmino.	16 - 22
2.1.- Etiopatogenia de la infección intraamniótica.	18
2.2.- Flora vaginal alterada. Vaginosis bacteriana.	20
2.3.- Antibióticos en la rotura prematura de membranas pretérmino.	22
3.- Infección intraamniótica y daño perinatal. Síndrome de respuesta inflamatoria fetal.	23 - 29
3.1.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y daño neurológico.	25
3.2.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y displasia broncopulmonar.	26
3.3.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y disfunción cardíaca fetal.	27
3.4.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y sepsis neonatal.	29
4.-Diagnóstico de infección intraamniótica. Amniocentesis	30 - 37

diagnóstica.	
4.1.- Amniocentesis diagnóstica: concepto, aceptabilidad y seguridad de la prueba, utilidad de la prueba, y grupos de riesgo objetivos de la prueba.	30
4.2.- Análisis del líquido amniótico e interpretación de los resultados.	35
II Hipótesis de trabajo y objetivos.	38 - 39
III Material y métodos.	40 - 54
1.- Población de estudio y protocolo de actuación.	41 - 44
2.- Ecografía y realización de la amniocentesis.	45 - 46
3.- Análisis del líquido amniótico.	47 - 51
3.1.- Muestra en laboratorio de urgencias.	47
3.2.- Muestra en laboratorio de microbiología. Biología molecular.	48
3.3.- Muestra en laboratorio de microbiología. Exudados.	49
3.4.- Muestra en laboratorio de microbiología. Infecciones de transmisión sexual (ITS).	50
3.5.- Muestra en laboratorio de microbiología. Virología.	50
4.- Análisis anatomopatológico de las placentas.	52
5.- Análisis estadístico.	53 - 54
IV Resultados.	55 - 80
1.- Población de estudio.	55 - 62
1.1.- Indicación.	56
1.2.- Semanas de gestación.	57
1.3.- Edad y paridad de las pacientes.	58

1.4.- Tratamiento antibiótico previo.	58
1.5.- Muestras de líquido amniótico obtenidas tras la amniocentesis.	60
2.- Complicaciones en la realización de la prueba.	63 - 64
3.- Análisis anatomopatológico de las placentas y evolución clínica de las pacientes (Gold Standard).	65
4.- Resultados del análisis del líquido amniótico.	66 - 72
4.1.- Resultados del laboratorio de microbiología.	66
4.2.- Resultados del laboratorio de urgencias.	70
5.- Resultados perinatales.	73 - 80
5.1.- Vía del parto.	73
5.2.- Valor del pH en arteria umbilical al nacimiento. Sexo de los neonatos.	73
5.3.- Edad gestacional al parto y peso al nacimiento.	74
5.4.- Morbi-mortalidad neonatal.	75 - 80
V Discusión.	81 - 113
1.- Población de estudio.	81- 85
2.- Complicaciones en la realización de la prueba.	86 - 88
3.- Análisis anatomopatológico de las placentas y evolución clínica de las pacientes (Gold Standard).	89 - 91
4.- Resultados de la amniocentesis.	92 - 105
4.1- Resultados del laboratorio de microbiología.	92
4.2.- Gérmenes identificados.	97
4.3.- Resultados del laboratorio de urgencias.	102

5.- Resultados perinatales.	106 - 113
5.1.- Resultado obstétrico	106
5.2.- Morbi-mortalidad neonatal.	108 - 113
VI Conclusiones.	114 - 115
VII Anexos.	116 - 120
VIII Bibliografía.	121- 133

I INTRODUCCIÓN

1.- Amenaza de parto pretérmino y rotura prematura de membranas pretérmino. Concepto, epidemiología, morbilidad y consecuencias socio-sanitarias, y etiopatogenia.

1.1.- Concepto de parto pretérmino y rotura prematura de membranas pretérmino.

La Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO) define el parto pretérmino como aquel que se produce antes de la semana 37 de gestación, o antes de los 259 días contados desde el primer día de la última menstruación¹. En la mayor parte de los casos existe una correspondencia entre peso y semanas de gestación, por lo que la mayoría de bajos pesos son pretérminos y por ello no es infrecuente utilizar indistintamente ambos indicadores para valorar la madurez fetal; no obstante, hay que tener en cuenta que no siempre hay un paralelismo entre cronología y peso². El parto pretérmino lo podemos subdividir a su vez en 4 grupos en función de la edad gestacional:

- Pretérmino tardío: aquel que acontece entre las 34 y las 37 semanas de gestación.
- Moderadamente pretérmino: aquel que acontece entre las 32 y las 34 semanas de gestación.
- Muy pretérmino: aquel que acontece entre las 32 y las 28 semanas de gestación.
- Extremadamente pretérmino: aquel que acontece por debajo de las 28 semanas de gestación.

Del mismo modo podemos clasificar el parto pretérmino en función del peso al nacimiento:

- Bajo peso al nacimiento: peso inferior a los 2500 g.
- Muy bajo peso al nacimiento: peso inferior a los 1500 g.
- Extremado bajo peso al nacimiento: peso inferior a los 1000 g.

Se entiende por rotura prematura de membranas (RPM), la pérdida de integridad de las membranas ovulares antes del inicio del parto, con la consiguiente salida de líquido amniótico (LA) y la puesta en comunicación de la cavidad amniótica con el canal endocervical y la vagina. Cuando esto se produce por debajo de las 37 semanas de gestación hablamos de rotura prematura de membranas pretérmino (RPMP)³. La amenaza de parto pretérmino (APP) es el proceso clínico sintomático que sin tratamiento, o cuando éste fracasa, podría conducir a un parto antes de las 37 semanas completas de gestación⁴.

Tanto la APP como la RPMP son dos entidades clínicas que confluyen en el parto pretérmino. Si se produce una APP esta dará lugar a un parto pretérmino a menos que se instaure tratamiento tocolítico y este resulte efectivo; y en el caso de la RPMP, esta a su vez puede dar lugar a una APP, o bien será necesaria una terminación pretérmino de la gestación por indicación médica en virtud del interés fetal (oligoamnios, riesgo de corioamnionitis). Tanto la APP como la RPMP son síndromes que pueden responder a diferentes etiologías, y en muchas ocasiones no es posible definir esta causa. Mientras no sea posible tratar directamente la causa de la APP y de la RPMP el tratamiento será únicamente sintomático del síndrome, y no será posible la resolución del cuadro. En la literatura científica la infección en forma de corioamnionitis subclínica ocupa un puesto destacado como noxa conocida de la APP y la RPMP desde hace décadas^{5, 6}, no obstante su diagnóstico representa un reto en la actualidad.

1.2.- Epidemiología del parto pretérmino.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2005 se registraron 12,9 millones de partos pretérmino, lo que representa el 9,6% de todos los nacimientos a nivel mundial. Aproximadamente 11 millones (85%) de ellos se concentraron en África y Asia, mientras que en Europa y América del Norte (excluido México) se registraron 0,5 millones en cada caso. En América Latina y el Caribe se produjeron 0,9 millones de partos pretérmino. Las tasas más elevadas de prematuridad se dieron en África y América del Norte (11,9% y 10,6% de todos los nacimientos, respectivamente), y las más bajas en Europa (6,2%)⁷. La tasa de partos pretérminos ha aumentado un 20% desde

1990, fundamentalmente a expensas de pretérminos tardíos (34-37 semanas). Además existen variaciones entre los diferentes grupos socioeconómicos y las diferentes razas. Por ejemplo, en 2005 en Estados Unidos las mujeres de raza negra tenían una tasa del 18.4% de parto pretérmino, en comparación con las mujeres no hispanas blancas que tenían una tasa del 11,7%, y las mujeres hispanas que tenía una tasa del 12,1%. Además se ha producido un aumento en las tasas de parto pretérmino a expensas de los grupos demográficos que retrasan la edad de la primera gestación y los que utilizan técnicas de reproducción asistida^{8, 9}. La principal tasa de parto pretérmino la encontramos en el mundo en desarrollo, donde el grueso de la mortalidad y la morbilidad es secundario a enfermedades infecciosas como la malaria, VIH, tuberculosis, vaginosis bacteriana, y parásitos intestinales. El crecimiento de la industria y de la atención médica en muchos países en desarrollo ha tenido efectos paradójicos en los partos pretérmino ya que las mayores tasas de nacimientos pretérmino se ven en las zonas más prósperas, donde también se ha observa un aumento en la tasa de cesáreas. El número de partos pretérmino está aumentado en los países desarrollados debido a la alta incidencia de embarazos múltiples asociados a las técnicas de reproducción asistida, y al aumento del parto pretérmino iatrogénico alentado por las mejoras en la atención neonatal y las mejoras en la mortalidad neonatal. Más de un tercio de los nacimientos pretérmino se producen por indicación médica⁹.

Según la base de datos de la Sección de Medicina Perinatal de la SEGO, en el año 2004, en el total de los hospitales públicos nacionales, la tasa de prematuridad fue del 9'47%. En el Hospital Universitario La Paz de Madrid, se ha pasado en 25 años de una tasa del 4-5% a una tasa del 9-10%, a expensas fundamentalmente de partos muy pretérminos (32-28 semanas de gestación) y extremadamente pretérminos (< 28 semanas de gestación)¹⁰.

1.3.- Parto pretérmino: morbilidad y consecuencias socio-sanitarias.

La supervivencia neonatal ha mejorado en los países desarrollados debido principalmente a dos factores: la utilización de corticoides prenatales para la aceleración farmacológica de la madurez pulmonar fetal, y la mejora de las unidades de cuidados intensivos neonatales. La supervivencia neonatal sigue siendo frágil en los límites de viabilidad, mejorando dramáticamente con cada semana que avanza la gestación, de tal forma que a las 23 semanas de gestación, la supervivencia es del 24%, aumentando al 57% a las 24 semanas de gestación y al 74% en la semana 25. La mortalidad neonatal está causada fundamentalmente por la extrema prematuridad. Si excluimos las malformaciones congénitas letales y el trauma al nacimiento, la mortalidad neonatal es un fenómeno raro después de las 30 semanas de gestación, de tal manera que la utilización de corticoides antenatal y de tocolíticos no está indicada más allá de la semana 34 de gestación¹¹.

Más allá de las 24 semanas de gestación la preocupación principal se refiere a la morbilidad neonatal y los resultados a largo plazo. Las tres principales causas de morbilidad y mortalidad neonatal en recién nacidos pretérmino son el síndrome de distrés respiratorio (SDR), la hemorragia intraventricular (HIV) y la enterocolitis necrotizante (NEC). Estas tres entidades decrecen su incidencia en el neonato a medida que aumentan las semanas gestacionales, de tal modo que en torno a la 30-32 semanas de gestación la incidencia de HIV y de NEC prácticamente desaparecen. El riesgo de SDR también disminuye con la edad gestacional, aunque sigue siendo una causa significativa de morbilidad hasta por lo menos las 34 semanas de gestación. Además de estas secuelas a corto plazo, a largo plazo se producen secuelas muy importantes como parálisis cerebral, displasia broncopulmonar (DBP), malabsorción intestinal, déficit cognitivos y sensoriales, etc^{10, 12}. Con el fin de evaluar estas secuelas a largo plazo surge el estudio EPICure 1¹³, consistente en un estudio poblacional que analiza la supervivencia y el estado de salud a largo plazo en los recién nacidos vivos por debajo de las 26 semanas de gestación en Reino Unido e Irlanda en 1995 con un seguimiento a 10 años. En 2006 surge el estudio EPICure 2 que plantea el mismo método pero amplía las semanas gestacionales hasta 27. De la comparación de EPICure 1 y EPICure 2

ya se obtiene un dato altamente relevante y es que a pesar de que la supervivencia por debajo de la semana 26 se ha incrementado, la tasa de complicaciones sigue siendo similar a la existente hace 10 años. EPICure 1¹³ revela una supervivencia del 33% en semana 24 y del 52% en semana 25, y una supervivencia sin secuelas del 2'6% a las 24 semanas y del 8'3% a las 25 semanas.

El parto pretérmino supone un elevado coste tanto por el consumo de recurso en las unidades de cuidados intensivos neonatales como por el gasto derivado de las secuelas a largo plazo. Además no hay que olvidar los gastos sociales, incluyendo la pérdida de empleo por parte de un miembro de la familia que debe ocuparse del neonato; y la pérdida de los futuros ingresos potenciales del niño afectado¹¹. La bibliografía arroja cifras muy variables, pero en todos los casos se observa un coste que es inversamente proporcional a las semanas de gestación¹⁰. Se ha estimado que el incremento de los costes médicos directos de un recién nacido de bajo peso al nacimiento en el primer año de vida en los Estados Unidos superó los 5800 millones de dólares en 2001, representando el 27% del total de los costes en salud en pediatría¹⁴. Sin embargo la rentabilidad de los cuidados intensivos neonatales es bastante favorable si se compara con otras intervenciones médicas bien aceptadas, como la cirugía de revascularización coronaria y la diálisis renal¹⁵.

1.4.- Etiopatogenia del parto pretérmino.

Aproximadamente el 70% de los nacimientos pretérmino son el resultado de APP (45%) y de la RPMP (25%). El 30% restante corresponde a intervenciones médicas por compromiso materno o fetal (preeclampsia/eclampsia, crecimiento intrauterino restringido, metrorragia, etc.)¹⁶. La evidencia clínica y de laboratorio sugieren que una serie de procesos patológicos pueden conducir a una vía final común, que es el parto pretérmino. Los cinco procesos principales son:

1. Activación prematura bien en la madre bien en el feto del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal (HHS). Factores de estrés materno, físicos o

psicológicos (Ej. depresión), pueden activar el eje HHS materno y se han asociado con una tasa ligeramente mayor de parto pretérmino. Además, el riesgo de parto pretérmino aumenta con la severidad de la depresión lo que sugiere un efecto "dosis-dependiente"¹⁷. La activación prematura en el feto del eje HHS puede ser el resultado del estrés generado por la presencia de vasculopatía útero-placentaria, y tiene una gran correlación con el parto pretérmino¹⁸. Los mecanismos por los cuales se cree que la activación del eje HHS pueden causar APP pueden ser: aumento de la producción placentaria y liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH)¹⁹; y/o aumento de la liberación de corticotropina (ACTH) en la hipófisis fetal, lo que estimularía la producción placentaria de compuestos estrogénicos que activarían el miometrio e iniciarían el trabajo de parto²⁰.

- ❖ Papel de la CRH en el mecanismo del parto: la producción de CRH a nivel placentario estimula a su vez la liberación de ACTH en la adenohipófisis, que a su vez induce la liberación a nivel de la glándula suprarrenal de cortisol; el cual, inhibe la liberación hipotalámica de CRH y la liberación hipofisaria de ACTH, pero estimula de nuevo la liberación placentaria de CRH, estableciéndose un feed-back positivo. Por otro lado, la CRH placentaria estimula la producción de prostaglandinas a nivel del amnios, corion y decidua; y estas prostaglandinas establecen un nuevo feed-back positivo estimulando la liberación placentaria de CRH²¹.
- ❖ Papel de los compuestos estrogénicos en el mecanismo del parto: la secreción de ACTH en la adenohipófisis fetal estimula la síntesis adrenal de sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA), que se convierte en 16-hidroxi-DHEA-S en el hígado fetal. Además la CRH placentaria también puede aumentar la producción de DHEA suprarrenal fetal de forma directa. La placenta convierte estos precursores de andrógenos en estrona, estradiol y estriol, que en presencia del receptor de estrógeno alfa, activan el miometrio incrementando la formación de gap-

juntions, de receptores de oxitocina, la actividad de las prostaglandinas y las enzimas responsables de la contracción muscular (quinasa de la cadena ligera de la miosina, calmodulina). Por otro lado, la disminución de la progesterona funcional se acompaña por crecientes concentraciones miométriales de receptor de estrógeno alfa, lo que permite esta activación miométrial inducida por los estrógenos²¹.

2. Respuesta inflamatoria exagerada / infección. Datos analíticos y clínicos muestran una relación entre la APP y la presencia de patógenos sistémicos y en el tracto genitourinario. La bacteriuria asintomática se asocia de forma independiente con la APP, de tal forma que el diagnóstico y tratamiento de esta condición parece reducir el riesgo de parto pretérmino²². Con respecto a las alteraciones en la flora vaginal, las pacientes que no tienen alteraciones de la flora vaginal tienen un 75% menos de riesgo de parto antes de las 35 semanas de gestación, que las mujeres con flora vaginal anormal. La ausencia de *Lactobacillus* y la presencia de vaginosis bacteriana se asocia con un aumento del doble de riesgo de parto pretérmino, mientras que la presencia de cocos Gram positivos asociados a vaginitis aeróbica se asocia con un aumento de riesgo tres veces superior de parto pretérmino²³. De la misma forma, la presencia de enfermedad periodontal durante la gestación se asocia con altas tasas de parto pretérmino; demostrando Jeffcoat et al.²⁴ que un tratamiento exitoso de la enfermedad periodontal, reduce el riesgo de parto pretérmino. Por último, la confirmación histológica de corioamnionitis está presente en un elevado porcentaje de partos pretérminos (50% en los partos entre semanas 23 y 24, que se reduce en el 5% en los partos por encima de la semana 37)²⁵. Estos y otros estudios, sugieren que los trastornos de la inmunidad materna, innatos o adquiridos, más que la mera presencia de ciertas bacterias en el tracto genital, son las principales causas de la inflamación asociada con la APP. La predisposición individual de cada paciente, determinada por determinados polimorfismos genéticos en los mediadores inflamatorios²⁶,²⁷; explicaría por ejemplo las mayores tasas de APP en mujeres

afroamericanas en comparación con las caucásicas y las hispanas cuando hay infección en el tracto genital inferior²⁸.

❖ Los mecanismos complejos mediante los cuales una infección intraamniótica (IIA) puede generar la APP y la RPMP se pueden resumir de la siguiente forma: ligandos bacterianos darían lugar (bien de forma directa, bien por la activación de mediadores inflamatorios en las membranas) por un lado a la activación decidual con síntesis de prostaglandinas, y por otro lado la acción bacteriana daría lugar a degradación de la matriz extracelular y necrosis local, generando un debilitamiento de las membranas. La activación decidual con la síntesis de prostaglandinas daría lugar a APP y RPMP, y el debilitamiento de las membranas generaría RPMP.

3. Hemorragia decidual. El sangrado vaginal de una hemorragia decidual se asocia con un riesgo elevado de APP y RPMP²⁹.
4. Distensión uterina patológica. La gestación múltiple, el polihidramnios, y otras causas de distensión uterina excesiva están aceptados como factores de riesgo de APP. Un mayor estiramiento del miometrio induce la formación de gap-junctions, de receptores de oxitocina, la actividad de las prostaglandinas y las enzimas responsables de la contracción muscular (quinasa de la cadena ligera de la miosina, calmodulina)³⁰. La distensión del compartimiento fetal también contribuye a la activación del miometrio, ya que citoquinas, prostaglandinas y colagenasas se producen en el tramo superior de las membranas fetales³¹.

5. Insuficiencia cervical. Se trata de la dilatación patológica y / o borramiento del cérvix uterino no relacionado con contracciones y que conduce a la pérdida del embarazo previsible (Imagen 1 y 2). Puede ocurrir con o sin coexistencia de la distensión del cuerpo uterino. Es más probable que el acortamiento progresivo del cérvix uterino antes de la viabilidad sea

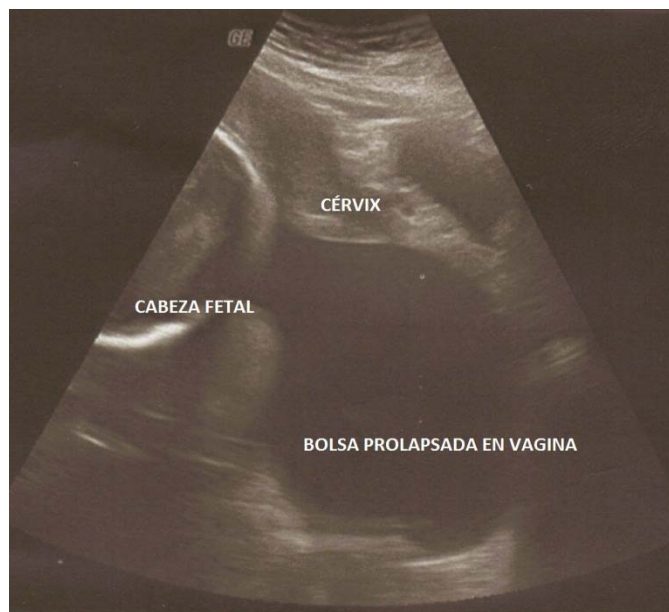


Imagen 1.- Gestante de 23 semanas que acudió a urgencias por metrorragia escasa y sensación de peso en genitales.

resultado de un estímulo inflamatorio y/o hemorrágico, en un momento de la gestación en el que el miometrio se encuentra en reposo, el LA, las membranas fetales, y la actividad antiproteasa decidual son máximas. Estos cambios en el cuello del útero se producen sin antecedentes aparentes de APP y/o RPMP. Se cree que polimorfismos genéticos harían a unas pacientes más susceptibles de padecer insuficiencia cervical frente a un estímulo hemorrágico y/o inflamatorio que a otras³². Clásicamente se ha asociado la presencia de insuficiencia cervical con cirugía previa a nivel del cuello uterino³³, sin embargo hay autores que achacan esta mayor incidencia de insuficiencia cervical y APP a la presencia de la patología cervical que determinó la cirugía, y no a la cirugía propiamente dicha³⁴. Esto sugiere que los factores inmunológicos, clínicos o de riesgo social asociados con el desarrollo de patología precancerosa en el cérvix uterino, en lugar de la cirugía cervical por sí sola, pueden aumentar las tasas de APP en mujeres que han sido sometidas a una conización cervical.



Imagen 2.- La misma gestante 1 día después del ingreso, el feto había cambiado su presentación a podálica y prolapsó ambos MMII en vagina.

Estos procesos pueden iniciarse mucho antes de que la APP o la RPMP puedan ser clínicamente diagnosticadas. Tanto la APP como la RPMP presentan un alto porcentaje de casos en los que la causa no queda claramente establecida, pensándose hoy en día que un

porcentaje considerable de ambas situaciones responden a un agente infeccioso que daría lugar a una IIA, por lo que serían dos expresiones clínicas de una misma enfermedad. Yoon et al.³⁵ afirman que el agente infeccioso está presente hasta en el 40% de los casos de RPMP que presentan contracciones al ingreso, y en un 75% de los casos de RPMP que desarrollan trabajo de parto tras el ingreso, así como en un 30% de los casos de APP con bolsa íntegra.

2.- Infección intraamniótica y parto pretérmino.

La IIA es la infección del LA, membranas, placenta y/o decidua; con riesgo de extensión al cordón (funisitis) y al feto. Otra forma de definir la IIA sería como la presencia de gérmenes en el LA (estéril en condiciones normales) y que comportará manifestaciones clínico-analíticas para la madre y/o para el feto³⁶. Se utiliza el término de corioamnionitis clínica para referirse al síndrome clínico que acompaña a la invasión microbiana de la cavidad amniótica, y que se caracteriza por la presencia de fiebre superior a 37,8 °C, taquicardia materna, taquicardia fetal, sensibilidad uterina y flujo vaginal maloliente. Hablamos de corioamnionitis subclínica cuando la IIA no se acompaña de corioamnionitis clínica. Además desde el punto de vista histológico, hablamos de corioamnionitis histológica cuando se observa la infiltración de la placenta y sus membranas por leucocitos polimorfonucleares³⁷.

Según la SEGO³⁶ la corioamnionitis clínica se diagnostica con la presencia de fiebre materna y al menos dos de los siguientes signos: taquicardia materna, taquicardia fetal, irritabilidad uterina, leucocitosis materna o LA purulento o maloliente. Se debe descartar en toda gestante que presente fiebre sin foco aparente, sobre todo si se sospecha o se ha confirmado una rotura de membranas (Tabla 1). Sin embargo, sólo en un pequeño porcentaje de los casos la IIA se acompaña de un cuadro característico de corioamnionitis clínica.

Síntomas en la corioamnionitis clínica	Frecuencia
Fiebre $\geq 37,8^{\circ}$	100 %
Taquicardia materna	20-80 %
Taquicardia fetal	40-70 %
Dolor uterino	4-25 %
Olor fétido del líquido amniótico	5-22 %
Leucocitosis materna	70-90 %

Tabla 1.- Síntomas de corioamnionitis.

La respuesta inmune materna y fetal en la IIA se manifiesta por la inflamación del corion/amnios (corioamnionitis histológica) y del cordón umbilical (funisitis), respectivamente^{38, 39}. Si bien estos cambios histológicos pueden ser consecuencia de agresiones no infecciosas (daño hipóxico, meconio, alergen), una infección subclínica o clínica es la causa más común. La corioamnionitis histológica está presente en el 60% - 80% de las placentas de los partos de menos de 28 semanas, 40% - 50% de las placentas de los partos de 29 a 34 semanas, y en el 5% - 30% de las placentas de los partos de más de 34 semanas⁴⁰. La funisitis casi siempre se asocia con corioamnionitis. La confirmación histológica de la presencia de leucocitos polimorfonucleares en la placenta y sus membranas (corioamnionitis histológica) es el patrón oro para confirmar el diagnóstico de una IIA, no obstante como es evidente sólo es posible un diagnóstico postparto. Redline⁴¹ establece una clasificación por grados dentro de la corioamnionitis histológica, diferenciando compartimento fetal y compartimento materno, y definiendo una serie de lesiones específicas según el microorganismo causante de la infección (Tabla 2).

Corioamnionitis histológica (compartimento materno)	Corioamnionitis histológica (compartimento fetal)	Patrones específicos
<ul style="list-style-type: none"> • Grado I: subcorionitis / corionitis aguda precoz. • Grado II: corioamnionitis aguda. • Grado III: corioamnionitis necrotizante. <ul style="list-style-type: none"> • Alto grado / severa: microabcesos subcoriónicos. • Prolongada: corioamnionitis subaguda / crónica • Diagnóstico diferencial: necrosis laminar y corioamnionitis crónica no infecciosa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grado I: flebitis umbilical / vasculitis coriónica. • Grado II: arteritis umbilical. • Grado III: periflebitis concéntrica / funisitis necrotizante. <ul style="list-style-type: none"> • Alto grado / severa: intensa vasculitis coriónica. • Prolongada: funisitis subnecrotizante • Diagnóstico diferencial: vasculitis por eosinófilos T, villitis de etiología desconocida con vasculopatía obliterante fetal, "pseudo-vasculitis" umbilical. 	<ul style="list-style-type: none"> • Funisitis periférica: <i>Cándida</i> spp. • Intervellositis aguda / abcesos intervellosos: <i>Listeria monocytógenes</i>, otras bacterias raras. • Intervellositis aguda / fibrina perivellositaria: sepsis materna (usualmente por bacilos Gram negativos).

Tabla 2.- Clasificación histológica de la corioamnionitis. Redline 2012.

2.1.- Etiopatogenia de la infección intraamniótica.

Se pueden diferenciar 4 vías a través de la cuales se puede desarrollar una IIA^{37, 42}:

- Vía ascendente (desde la vagina): es la vía más frecuente.
- Vía hematógena: en madres con bacteriemia.
- Vía retrógrada: desde la cavidad peritoneal a través de las trompas de Falopio.
- Vía directa: inoculación directa de gérmenes en pruebas invasivas.

Sin lugar a dudas es la vía ascendente la que juega un papel primordial, siendo los otros tres mecanismos mucho más infrecuentes.

La IIA producida por inoculación directa tras la realización de una prueba invasiva (amniocentesis, biopsia corial, cordocentesis) es anecdótica. La tasa de infección tras la realización de una amniocentesis es inferior al 1%, con resultados similares para la cordocentesis. La biopsia corial realizada por vía transcervical presenta una tasa de infección ligeramente superior⁴³. Zalud et al.⁴⁴ no presentan ningún caso de IIA tras la realización de 111 amniocentesis realizadas en el tercer trimestre. La obtención de un campo estéril mediante la aplicación de antisépticos locales a nivel del lugar de punción, así como la utilización de material esteril, disminuye al mínimo las posibilidades de una IIA por inoculación directa.

La IIA por vía hematógena acontece cuando patógenos presentes en la sangre materna llegan a la circulación útero-placentaria y al espacio intervelloso, pudiendo alcanzar al feto a través de las vellosidades capilares. La corioamnionitis aislada es característica de la infección ascendente, mientras que en la vía hematógena aparece una mayor inflamación de las vellosidades (villitis) y en el espacio intervelloso (intervellositis). El mecanismo exacto de paso de los gérmenes no se conoce. El agente infeccioso puede atravesar la barrera placentaria por endocitosis o a través de la superficie lesionada de una de las vellosidades. Los patógenos virales son los que más comúnmente producen infección hematógena de la placenta, aunque bacterias,

espiroquetas, hongos y protozoos también pueden causar infección por esta vía. Casi cualquier infección viral que ocurre durante el embarazo puede infectar la placenta. Casos característicos de IIA por vía hematógena son la IIA por *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, virus de la rubeola, virus de la varicela, y citomegalovirus (CMV). *Listeria monocytogenes* presenta también esta vía como principal característica, adquiriéndose la infección por vía digestiva al ingerir alimentos contaminados (principalmente lácteos no pasteurizados, y frutas / verduras contaminados), dando lugar a una bacteriemia, que es la responsable de la IIA⁴⁵. Se ha demostrado que una infección periodontal por *Fusobacterium nucleatum* puede también dar lugar a un cuadro de IIA y corioamnionitis clínica⁴⁶.

La vía retrógrada es una vía excepcional que podría acontecer en el contexto de una infección en la cavidad abdominal (ej. pancreatitis aguda, colecistitis aguda, etc.). Otra causa posible sería la infección procedente de un absceso anexial generado en etapas tempranas de la gestación.

La vía más común de IIA es la vía ascendente. Existen 4 evidencias que apoyan esta afirmación⁴²:

1. La corioamnionitis histológica es más común y grave en la zona de la rotura de las membranas que en otros lugares, como la placa coriónica placentaria o el cordón umbilical.
2. En casi todos los casos de neumonía congénita, la inflamación de las membranas corioamnióticas está presente.
3. Las bacterias identificadas en los casos de infecciones congénitas son similares a las que se encuentran en el tracto genital inferior.
4. En embarazos gemelares la corioamnionitis histológica es más frecuente en el primer gemelo, el cual tiene sus membranas en contacto con el cérvix uterino.

El proceso mediante el cual una IIA tiene su origen en la vía ascendente, se explica a través de 4 etapas^{37, 42}:

- Etapa I (alteración de la flora vaginal): se produce un cambio en la flora microbiana vaginal / cervical con la proliferación excesiva de microorganismos, produciendo una flora vaginal alterada / vaginosis bacteriana).
- Etapa II (disolución del tapón mucoso y acceso a la cavidad): en función de las características de estos gérmenes (virulencia, tamaño del inóculo, etc.), se producen enzimas proteolíticas que disuelven el tapón mucoso, invadiendo las bacterias el espacio coriodecidual y provocando una reacción inflamatoria local.
- Etapa III (infección de las membranas fetales): los microorganismos pueden invadir los vasos fetales causando una coriovasculitis, o bien pueden invadir el amnios y causar una IIA. La ruptura de las membranas no es un requisito previo para la IIA, ya que los microorganismos son capaces de atravesar las membranas intactas.
- Etapa IV (infección fetal): la infección del feto se puede producir a través de la deglución del LA contaminado (neumonía congénita), o por contacto directo (conjuntivitis, otitis y onfalitis). La siembra de cualquiera de estos sitios a la circulación fetal puede resultar en bacteriemia y sepsis fetal.

2.2.- Flora vaginal alterada. Vaginosis bacteriana.

La flora normal del tracto genital está dominada por *Lactobacillus* spp que mantiene el pH vaginal inferior a 4'5, lo cual disminuye la adherencia de las bacterias al epitelio vaginal, e impide el crecimiento de otros microorganismos como la *Gardnerella vaginalis* y gérmenes anaerobios. Además los *Lactobacillus* producen a pH bajos compuestos tóxicos para las bacterias como lactacin B, acidolin, y peróxido de hidrógeno⁴⁷.

Durante el embarazo la concentración de *Lactobacillus* aumenta 10 veces, los organismos anaerobios son menos comunes y los organismos aerobios son relativamente constantes. Como resultado, el tracto genital está muy colonizado por una flora bacteriana benigna, compuesta principalmente por organismos de baja virulencia. Cualquier alteración de este balance (vaginosis bacteriana, flora vaginal alterada) podría dar lugar a resultados adversos. La flora vaginal alterada rara vez viene definida por la presencia o ausencia de algún microorganismo específico, sino que es una condición polimicrobiana. Con el objetivo de clasificar las alteraciones en la flora vaginal, Lamont propone una clasificación de la flora vaginal anormal en el embarazo (Tabla 3)⁴⁷.

CLASIFICACIÓN SUGERIDA PARA LA FLORA VAGINAL ANORMAL EN EL EMBARAZO	GÉRMENES
I PATÓGENOS	(Ej. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>).
II STREPTOCOCCUS HEMOLÍTICO GRUPO B.	
III ORGANISMOS ENTEROFARÍNGEOS	(Ej. <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus faecalis</i>).
IV ORGANISMOS RELACIONADOS CON LA VAGINOSIS BACTERIANA	(Ej. <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Anaerobios</i> , <i>Mobiluncus spp</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>).

Tabla 3.- Clasificación de la flora vaginal anormal en el embarazo. Lamont 2004.

Circunstancias que aumenten la alcalinidad en el ambiente de la vagina, como la hemorragia (pH sanguíneo = 7'4), las relaciones sexuales (pH semen = 8), o las ducha vaginales; pueden dar lugar a que los *Lactobacillus* pierdan sus capacidades homeostáticas⁴⁷.

No está clara la prevalencia de la vaginosis bacteriana en la población, ya que varía en función de las áreas geográficas. Gratacós et al.⁴⁸ encuentran una prevalencia del 4'5% en 492 gestantes estudiadas por debajo de la semana 28 de embarazo. Martínez de Tejada et al.⁴⁹ eleva este porcentaje hasta el 7'5% en 301 gestantes estudiadas.

Con respecto a utilidad de realizar un screening en todas las gestantes para la prevención de la APP y la RPMP Guise et al.⁵⁰ realizan un amplio meta-análisis donde no encuentra beneficio en su aplicación a todas las embarazadas; no obstante, sí parece tener beneficio en aquellas gestantes en las que existen antecedentes de APP y RPMP. La SEGO se posiciona de esta misma manera, recomendando el screening sólo en pacientes de alto riesgo de APP⁵¹.

2.3.- Antibióticos en la rotura prematura de membranas pretérmino.

Actualmente se dispone de suficiente evidencia como para recomendar la profilaxis antibiótica en el tratamiento expectante de la RPMP. Sin embargo, no se conoce cuál es el fármaco o combinación de los mismos, así como la pauta que ofrece mejores resultados. Entre las propuestas se recogen³:

- Ampicilina 2g IV/6h + Eritromicina 250 mg IV/6h durante 48 horas, seguido de 5 días con amoxicilina y eritromicina oral.
- Eritromicina 250 mg oral /6h durante 10 días.
- Eritromicina 250 mg IV/6h durante 24 horas, seguido de Eritromicina 500 mg/6h oral hasta una semana
- Ampicilina 2 gramos iniciales seguido de 1gr/4h durante 3 días y seguir con 1gr/8h de amoxicilina + clavulánico. Duración 5-10 días.
- Ampicilina 1g IV/6h durante 24 horas, seguido de Amoxicilina 500 mg/8h oral hasta una semana o hasta recibir el resultado negativo del cultivo de *Estreptococo* grupo B
- Ampicilina 1g IV/6h + gentamicina 240 mg IV/24h. Duración 5 días (Hospital Universitario La Paz).

3.- Infección intraamniótica y daño perinatal. Síndrome de respuesta inflamatoria fetal.

A pesar de que la relación causal entre hipoxia intrauterina y parálisis cerebral ha dominado la práctica obstétrica durante 150 años, investigaciones epidemiológicas de los últimos 20 años muestran que su importancia como agente etiopatogénico de la parálisis cerebral es reducido. Datos recientes indican que la gran mayoría de las causas de parálisis cerebral tienen lugar en el periodo antenatal y que los fenómenos inflamatorios que preceden al parto, incluyendo la infección intrauterina, juegan un papel más importante que la asfixia intraparto en la generación de una posterior parálisis cerebral⁵². O'callaghan et al.⁵³ realizan una revisión de los factores de riesgo asociados de forma estadísticamente significativa con la parálisis cerebral, encontrando que el parto pretérmino, el crecimiento intrauterino restringido, la infección perinatal, y el parto múltiple representan los mayores riesgos para el desarrollo de parálisis cerebral.

Existen criterios bien definidos para diagnosticar la presencia de corioamnionitis clínica, resultando fácil su detección. No obstante, cuando el cuadro clínico ya se ha establecido, el riesgo de graves secuelas fetales y neonatales se incrementa muy significativamente. El mecanismo por el que se produce daño fetal en el contexto de una IIA se explica a través del llamado síndrome de respuesta inflamatoria fetal (SRIF). Este síndrome se caracteriza por una elevación de citoquinas proinflamatorias en la circulación fetal, y se define por una concentración de interleucina 6 (IL-6) > 11 pg / ml en la sangre fetal. Esta condición está presente en un subgrupo de pacientes con APP o RPMP y se asocia con un proceso multiorgánico intraútero que puede llevar a un shock séptico y muerte fetal⁵⁴. El aumento de citoquinas proinflamatorias en sangre fetal y en LA se ha correlacionado con el desarrollo de una serie de secuelas fetales y neonatales como leucomalacia periventricular (LPV), parálisis cerebral, DBP, sepsis fetal y disfunción cardíaca fetal^{35, 55, 56, 57}. Cabe esperar la presencia de este síndrome en un 20-50% de gestantes con IIA¹⁰.

El SRIF fue definido como tal por Gómez et al.⁵⁴ que realizaron un estudio sobre 105 pacientes con APP y 52 con RPMP. En todos los casos

realizaron amniocentesis para diagnóstico de IIA y cordocentesis para la medición de IL-6 como expresión de la respuesta inflamatoria en el feto. Demostraron que aquellos neonatos en los que los valores de IL-6 fueron > 11 pg / ml en sangre fetal tras la cordocentesis, tenían mayores tasas de morbilidad fetal (definida como la presencia de SDR, sepsis neonatal precoz, neumonía, DBP, HIV, LPV, y NEC (Tabla 4).

GRUPO	AMNIOCENTESIS / CORDOCENTESIS	NÚMERO DE PACIENTES	MORBILIDAD NEONATAL SEVERA (%)	EDAD GESTACIONAL AL PARTO (SEMANAS, MEDIA ± DS)
GRUPO I	Cultivo negativo en LA, IL-6 ≤ 11 pg/ml en plasma fetal	27	7 (25'9%)	32'1 ± 3'1
GRUPO II	Cultivo positivo en LA, IL-6 ≤ 11 pg/ml en plasma fetal	10	4 (40%)	31'9 ± 2'3
GRUPO III	Cultivo negativo en LA, IL-6 > 11 pg/ml en plasma fetal	10	6 (60%)	30'1 ± 4'9
GRUPO IV	Cultivo positivo en LA, IL-6 > 11 pg/ml en plasma fetal	26	22 (84'6%)	29'3 ± 2'9
Modificado de Gómez et al. 1998. LA: líquido amniótico; IL-6: Interleuquina 6.				

Tabla 4.- Relación entre SRIF y morbilidad neonatal. Romero 1998.

Son múltiples los estudios que relacionan la corioamnionitis con la parálisis cerebral, habiéndose publicado recientemente un meta-análisis⁵⁸ en el que se refleja que el riesgo de que se genere parálisis cerebral en el neonato aumenta un 140% en el caso de corioamnionitis clínica, y un 80% en el caso de que se detecte la presencia de corioamnionitis histológica. Esto nos habla de lo importante que es alcanzar un diagnóstico precoz de la IIA ya que se han presentado pruebas de que el feto es capaz de desarrollar una respuesta de fase aguda en presencia no sólo de una IIA manifiesta, sino también durante el curso de una infección subclínica⁵⁹. De hecho, en un estudio realizado sobre 254 pacientes⁶⁰ en los que se había diagnosticado RPMP se observó que los resultados perinatales eran similares tanto en los casos en los que se había producido una corioamnionitis subclínica como en aquellos en los que se había producido un cuadro clínico florido.

Así como la expresión clínica del SRIF es el aumento en la morbimortalidad perinatal (dado que el SRIF es una condición subclínica, sólo en un porcentaje de los casos existirá clínica asociada), y la expresión analítica es la elevación de la IL-6 en sangre fetal; la expresión histológica de este síndrome es la presencia de neutrófilos que infiltran las paredes musculares de las venas o arterias de la placa coriónica (vasculitis coriónica humana) y / o del cordón umbilical (funisitis)²⁵.

Podemos decir que el SRIF es análogo al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) que se produce en los adultos, sólo que en vida intrauterina. Un hecho conocido es que el SRIS en adultos con frecuencia se produce como consecuencia de una amplia gama etiologías no infecciosas (por ejemplo, traumatismos, quemaduras, pancreatitis); no obstante el SRIS de causa infecciosa y el SRIS de causa no infecciosa presentan características clínicas similares. Por tanto, la posibilidad de que el SRIF pueda ser causado por agentes no infecciosos debe ser considerada. De hecho, se ha observado que la concentración plasmática fetal de IL-6 se encuentra elevada en los casos de anemia hemolítica fetal causada por incompatibilidad Rh. Lee et al.⁶¹ estudian 89 casos de RPMP en los que diagnostican SRIF en 61 pacientes, no encontrando agente infeccioso en 26 de los casos; no obstante, constatan una menor intensidad en el síndrome en aquellos casos en los que no se detecta una causa infecciosa del mismo.

3.1.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y daño neurológico.

La parálisis cerebral es un conjunto de síntomas caracterizado por el control aberrante del movimiento o de la postura, que aparece en la infancia y puede conducir a una costosa discapacidad para toda la vida. Cada vez más datos procedentes de los últimos estudios epidemiológicos, datos clínicos, y la evidencia experimental; otorgan un papel preponderante a la infección intrauterina o inflamación en la etiología de este trastorno⁶².

Yoon et al.⁶² demuestran la asociación entre la inflamación intraamniótica con el desarrollo de parálisis cerebral, tras realizar un

seguimiento de 123 recién nacidos por debajo de la semana 35. Demuestran la presencia de inflamación intraamniótica mediante la determinación en LA, obtenido por amniocentesis, de IL-6, IL-8, y leucocitos. Como marcador histológico de SRIF utilizan la funisitis del cordón umbilical. Realizan un seguimiento de 3 años diagnosticando la parálisis cerebral mediante exploración neurológica. Tras realizar un ajuste por edad gestacional, demuestran que las tasas de parálisis cerebral son mayores en el grupo con inflamación intraamniótica y funisitis histológica, de forma estadísticamente significativa. Wu et al.⁶³ realizan un metaanálisis donde alcanzan similares conclusiones.

El mecanismo por el que la IIA desemboca en parálisis cerebral se explica mediante la generación de LPV en el neonato. La LPV se refiere a la necrosis de la sustancia blanca cerebral con una distribución específica, dorsolateral a los ángulos externos de los ventrículos laterales y con la participación de la región adyacente a los trígonos, al cuerno frontal, y al cuerpo de los ventrículos laterales. El mecanismo mediante el cual la infección produce LPV, se basa en que la sustancia blanca es especialmente susceptible al daño mediado por citoquinas producidas como consecuencia de la infección materna o fetal, incluso cuando la infección es asintomática^{55, 56, 64, 65}. Las citoquinas proinflamatorias activan los astrocitos y las células de la microglia en la sustancia blanca, que a su vez liberan especies reactivas del oxígeno que producen el daño cerebral⁶⁶.

3.2.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y displasia broncopulmonar.

La DBP, también conocida como enfermedad pulmonar crónica neonatal, es una causa importante de enfermedad respiratoria en los recién nacidos pretérminos que se traduce en una significativa morbilidad y mortalidad. Son múltiples los estudios que han relacionado fuertemente la DBP con la corioamnionitis^{35, 55, 56, 57}, no obstante, es una asociación que se encuentra en duda en la actualidad.

Hartling et al.⁶⁷ realizan una revisión sistemática seleccionando 59 estudios (15295 pacientes), determinando que existe una fuerte evidencia de sesgo de publicación que sugiere una sobreestimación potencial de la medida de la asociación entre la IIA y la DBP. El análisis ajustado y no ajustado de las conclusiones muestra que la IIA se asocia significativamente con la DBP, sin embargo, los resultados ajustados son más conservadores en la magnitud de la asociación. Los autores encuentran una fuerte evidencia de sesgo de publicación, concluyendo que a pesar de la existencia de un gran cuerpo de evidencia, la IIA no puede ser definitivamente un factor de riesgo para la DBP.

3.3.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y disfunción cardíaca fetal.

El SRIF se ha relacionado con la generación intraútero de disfunción cardíaca fetal. El mecanismo a través del cual se produce esta disfunción, vendría determinado una vez más por el aumento en las citoquinas proinflamatorias en sangre fetal. La liberación de mediadores proinflamatorios da lugar a un aumento en la distensibilidad del ventrículo izquierdo, desembocando en disfunción cardíaca fetal^{57, 68, 69}.

Es bien conocida la existencia de factores depresores del miocardio en pacientes con SIRS o pacientes sépticos en los cuales el colapso cardíaco agudo y la incapacidad de adaptabilidad del miocardio llevan rápidamente a la muerte. Estudios recientes han reportado que la presencia de corioamnionitis histológica en neonatos se asoció con disminución de la presión media diastólica y los niveles de IL-6 se correlacionaron con las cifras de presión arterial media. Además, en estados de sepsis fetal severa (similar al shock séptico del adulto) la depresión miocárdica puede conducir a la muerte fetal, tal como ha sido observado en casos de RPMP⁷⁰.

La aplicación del índice Tei (índice de rendimiento miocárdico, llamado así en honor a su autor, y que representa un método indirecto de valoración de la función cardíaca fetal de manera no invasiva) al feto con FIRS permite la evaluación de la función ventricular de una manera no invasiva⁶⁹.

Se desconoce por qué sólo hay afectación a nivel del ventrículo izquierdo y no en el ventrículo derecho. Romero⁵⁷ propone 3 hipótesis:

- La invasión microbiana del pulmón fetal podría crear una respuesta inflamatoria local y la sangre transportada del pulmón a la aurícula izquierda contendría mayores concentraciones de factor de necrosis tumoral α , interleucina 1β y otros factores cardiodepresores; los cuales podrían estar ausentes en la sangre que llega a la aurícula derecha procedentes de la circulación sistémica.
- Las alteraciones en el Doppler podrían ser más fáciles de detectar debajo de la válvula mitral que debajo de la válvula tricúspide.
- Es posible que se requiera de muestras poblacionales muy superiores a las que han sido estudiadas para detectar adecuadamente cambios en el ventrículo derecho.

Durante los primeros días del shock séptico, el patrón de depresión miocárdica en adultos se caracteriza por dilatación del ventrículo izquierdo, disminución de la fracción de eyección ventricular y un índice cardíaco normal o elevado. En pacientes que sobreviven al evento es frecuente observar dilatación ventricular aguda en los primeros días. Esto ha sido atribuido a una dilatación ventricular compensatoria que ocurre para mantener el volumen latido a pesar de la pérdida importante de la contractilidad miocárdica. Estudios recientes han propuesto que los cambios en la función cardíaca diastólica observados en los fetos con IIA representan un mecanismo compensatorio similar al de adultos con sepsis. Es posible que aquellos fetos incapaces de lograr el cambio de distensibilidad cardíaca no logren mantener el volumen latido y el trabajo cardíaco y por lo tanto no alcancen una adecuada perfusión cerebral, resultando predispuestos a presentar hipotensión e isquemia cerebral en el útero, creándose el microambiente ideal para el desarrollo de LPV. Por lo tanto, los cambios en la función diastólica reportados en la literatura que presentan los fetos con IIA podrían tener valor protector e incluso de supervivencia⁷⁰.

3.4.- Síndrome de respuesta inflamatoria fetal y sepsis neonatal.

La presencia de corioamnionitis histológica aumenta la probabilidad de encontrar en los neonatos marcadores de infección, colonización bacteriana y sepsis congénita⁷¹. De hecho, un tercio de las pacientes con IIA tienen bacteriemia fetal⁷². Lee et al.⁷¹ encuentran mayores tasas de neutrofilia, proteína C reactiva elevada, y abundancia de células blancas en el lavado gástrico de los neonatos; en los casos de corioamnionitis histológica.

4.- Diagnóstico de infección intraamniótica. Amniocentesis diagnóstica.

4.1.- Amniocentesis diagnóstica: concepto, aceptabilidad y seguridad de la prueba, utilidad de la prueba, y grupos de riesgo objetivos de la prueba.

a) Concepto: la amniocentesis diagnóstica consiste en la toma de LA mediante punción transabdominal para su estudio, con el fin de detectar agentes infecciosos en el LA. La amniocentesis diagnóstica tiene el potencial para detectar la infección subclínica antes de la aparición de la enfermedad en el feto, permite intervenciones específicas, y así disminuir la morbilidad y mortalidad neonatal^{73, 74, 75, 76}.

La primera referencia en la literatura sobre la utilización de la amniocentesis específicamente para el diagnóstico de la infección en pacientes con RPMP fue en 1979 por Garite et al⁷³. A pesar de su uso durante más de 20 años para esta indicación, sigue habiendo una reticencia general de los médicos a emplear esta técnica. Parte de esta indecisión se basa en un prejuicio general contra el uso de procedimientos invasivos de diagnóstico en mujeres embarazadas. El riesgo bajo, pero real, de muerte fetal relacionada con el procedimiento debido a exanguinación, trauma fetal o lesión con aguja, es en parte responsable de esta actitud⁷⁷ (Imagen 3).

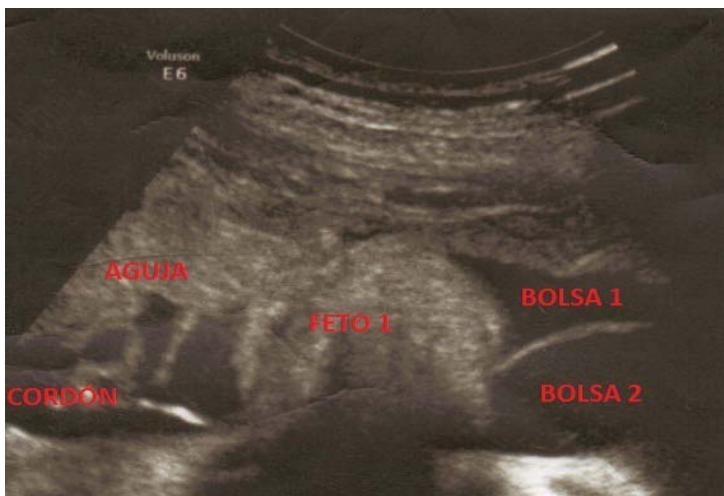


Imagen 3.- Amniocentesis transplacentaria en gestación gemelar bicorial biamniótica.

La presencia de oligoamnios se considera por muchos como la amniocentesis más difícil y peligrosa (Imagen 4). En estos casos, sin embargo, la amniocentesis puede ofrecer el mayor beneficio; ya que las tasas de IIA son más altas en los casos de oligohidramnios^{78, 79, 80, 81}.



Imagen 4.- Amniocentesis en un caso de oligoamnios severo por RPM

b) Aceptabilidad y seguridad de la prueba: en general, la aceptación de la técnica por parte de los pacientes es buena. Según datos publicados en un estudio del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Montreal⁸², entre 2005 y 2007 sobre 40 casos de RPM en pretérmino, se produjo una aceptación de

la técnica del 70% (28/40) de los pacientes; siendo las razones para rechazar la técnica, las complicaciones inherentes al proceso. No obstante, McIntosh et al.⁸³ comunican enormes dificultades para introducir la técnica como parte del manejo habitual en la APP y la RPMP, encontrando que en sólo 7 de 59 (11'9%) pacientes admitidos en su centro con diagnóstico de APP y/o RPMP fue realizada la prueba. Comunican que sólo en el 39% de los pacientes fue ofrecida la prueba, y que de estos en los que si se ofreció la prueba, la principal causa de que no se realizara, fue la negativa de los pacientes por miedo a complicaciones del propio procedimiento. Del grupo de pacientes en los que la amniocentesis no fue ofrecida, el 39% se consideraron candidatos inapropiados (evolucionaron rápidamente hacia la finalización de la gestación, o bien, fueron considerados falsas APP), y al otro 61% no se le ofreció la prueba por parte del facultativo responsable por diferentes razones.

La realidad es que es una prueba muy segura, y con alta rentabilidad diagnóstica cuando los casos son bien seleccionados. El hecho de que la extracción de LA se realiza mediante control ecográfico, disminuye al máximo las posibilidades de lesión fetal, del cordón, o placentaria; incluso en casos de oligoamnios severo. Zalud et al.⁴⁴ realizan 111 amniocentesis en el tercer trimestre con un 3'6 % de complicaciones que fueron autolimitadas en todos los casos, y no alteraron el curso de la gestación, si bien es cierto, que sólo fueron

amniocentesis diagnósticas de infección en 9 (8'1%) de los casos, siendo el resto análisis de la madurez pulmonar fetal.

c) Utilidad de la prueba: con respecto a la utilidad de la prueba, Porreco et al.⁸⁴ realizan un análisis retrospectivo sobre 293 pacientes con RPMP, siendo tratados ambos grupos con antibióticos y betametasona; y tocolíticos si además se añadió APP (cuando la edad gestacional era inferior a 28 semanas, en ausencia de datos de IIA). A 146 de las pacientes se les realizó un manejo sin amniocentesis, y a 147 se les realizó un manejo con amniocentesis diagnóstica. En ambos grupos se realizó una inducción del parto en caso de corioamnionitis clínica o cultivo de LA positivo, o si se alcanzó la edad gestacional deseada para la finalización de la gestación (34-35 semanas, o < de 34 semanas pero con evidencia de madurez pulmonar fetal mediante el análisis de LA). Consideran los autores que existe IIA cuando el cultivo del LA es positivo, la tinción de Gram muestra gérmenes, o se encuentra un elevado recuento de células blancas (> 50 leucocitos / mm^3) acompañado de bajos niveles de glucosa en LA (< 20 mg / dl). Como marcadores de morbilidad neonatal, establecen HIV grado III / IV, SDR (que requieren ventilación), DBP, sepsis demostrada (hemocultivos positivos), sospecha de sepsis (inestabilidad hemodinámica o respiratoria, proporción de neutrófilos inmaduros sobre el total $> 20\%$, recuento absoluto de neutrófilos < 1000 , o proteína C reactiva > 10 mg / l), NEC y retinopatía de la prematuridad. Los autores concluyen que en el grupo manejado mediante amniocentesis diagnóstica se produjo una reducción estadísticamente significativa de la morbilidad neonatal (OR 2.94, 95% IC 1.68-5.15, no amniocentesis diagnóstica vs. si amniocentesis diagnóstica).

Otros autores como Le Bouar et al.⁸⁵ realizan una revisión de la literatura en la que concluyen que no existe evidencia para recomendar la realización sistemática de amniocentesis diagnóstica de infección en casos de APP, y que su papel en los casos de RPMP está aún por determinar.

Probablemente el mayor punto de controversia esté en llevar a cabo la finalización de la gestación cuando esta se encuentra por debajo de la semana 28 (prematuridad extrema). En esta línea Blackwell et al.⁷⁷, realizan una revisión de la bibliografía para la división de medicina fetal de la Universidad de

Wayne (Estados Unidos). Los autores concluyen que cuando la corioamnionitis clínica se diagnostica en RPMP, existe un acuerdo universal de que la finalización de la gestación es la única opción. No obstante, lo qué es mejor para el feto con RPMP e IIA subclínica diagnosticados por amniocentesis es desconocido. ¿Es más beneficioso finalizar la gestación en gestantes de menos de 28 semanas, o tratar con antibióticos y continuar la conducta expectante, lo cual podría exponer al feto a citoquinas proinflamatorias que pueden aumentar el riesgo de daño neurológico (SRIF)? El hecho de que no sepamos las respuestas a estas difíciles preguntas no es una razón para ignorar la presencia de IIA subclínica en los casos de RPMP.

d) Grupos de riesgo objetivos de la prueba: el modo de obtener la mayor rentabilidad diagnóstica de la amniocentesis, con el mínimo posible de morbilidad, consiste en una correcta selección de los pacientes a la hora de realizar la prueba. De forma genérica podríamos decir, que todas las pacientes con RPMP y/o con APP con alto riesgo de infección, serían candidatas (Tabla 5).

RPM < 32 semanas	
Metrorragia II – III trimestre de causa desconocida	
APP < 28 semanas	
APP refractaria al tratamiento tocolítico	
Bolsa prolapsada en vagina	
APP + DIU / Cerclaje	
APP + analítica sospechosa	

Tabla 5.- Grupo de riesgo tributario de manejo con amniocentesis diagnóstica.

En el caso de la gestación gemelar, la existencia de otros factores desencadenantes de la APP y la RPMP como la sobredistensión uterina con o sin insuficiencia cervical, hacen más difícil establecer el grupo de riesgo. No obstante, diversos autores como Mazor⁸⁶ y Romero⁸⁷ concluyen que la asociación entre APP y RPMP con la IIA es la misma en gestaciones únicas y en gestaciones gemelares. Ambos autores encuentran una incidencia mucho mayor de infección en el saco que se presenta en primer lugar, siendo anecdótico la infección del gemelo superior en ausencia de infección del saco inferior.

Gómez et al.⁸⁸ realizan un estudio de cohorte retrospectivo para determinar la importancia clínica y la frecuencia de la invasión microbiana de la cavidad amniótica en pacientes con sangrado vaginal en ausencia de placenta previa, APP o RPMP. Incluyen pacientes que presentan sangrado vaginal entre la 18 y la 35 semanas de gestación, y que se sometieron a una amniocentesis poco después del ingreso para la evaluación de la situación microbiológica de la cavidad amniótica y / o del grado de madurez pulmonar fetal. El LA se cultivó para bacterias aerobias y anaerobias, así como micoplasmas genitales. Excluyen pacientes con APP, RPMP, placenta previa, abruptio placentae, pacientes portadoras de dispositivo intrauterino, así como aquellas con sangrado cervical local. 114 pacientes cumplieron criterios de infección, detectándose IIA en 16 de ellas (14%).

En un estudio publicado por Lee et al.⁸⁹, realizan amniocentesis diagnóstica en 52 pacientes con insuficiencia cervical (dilatación cervical \geq 1'5 cm, membranas intactas, y ausencia de contracciones uterinas regulares) entre las semanas 17 y 29 de gestación. Comunican la presencia de IIA en 4 de los 52 casos (8%).

El hallazgo de una cervix corto medido mediante ecografía transvaginal durante el 2º trimestre del embarazo, también ha sido relacionado con la presencia de IIA. Hassan et al.⁹⁰, realizan amniocentesis diagnóstica en 54 pacientes entre las semanas 14 y 24 de gestación. En todos los casos las pacientes presentaban un cervix < 25 mm medido mediante ecografía.

Encuentran IIA en 5 de estas pacientes (9%), a pesar de no haber presentado ningún síntoma. Otros autores encuentran también una fuerte relación entre longitud cervical disminuida e IIA^{91, 92}.

4.2.- Análisis del líquido amniótico e interpretación de los resultados.

a) Análisis del LA: una vez seleccionada la paciente, y obtenida la muestra, se procede al análisis del LA. Del LA se pueden obtener datos directos e indirectos sobre la presencia de IIA:

- Datos directos: PCR (reacción en cadena de la polimerasa) positiva para gérmenes, cultivo positivo del LA, visualización de gérmenes en la tinción de Gram.
- Datos indirectos: recuentos de leucocitos, determinación de glucosa, citoquinas proinflamatorias, esterasa leucocitaria, metaloproteasas, etc.

Cuando se habla de datos directos de infección, implica que la positividad en estos test supone la presencia de gérmenes en el LA. El principal problema de los cultivos y de la tinción de Gram, es la baja sensibilidad de estas técnicas, debido al pequeño tamaño del inóculo, al tratamiento con antibiótico que ya presentan en el momento de la pruebas muchas de las pacientes, y la alta prevalencia en IIA de gérmenes no cultivables. En los últimos años, la introducción de técnicas de biología molecular (PCR) para la detección de material genético (ADN) bacteriano ha supuesto un gran aumento de la sensibilidad, dado que no necesita de grandes cantidades de gérmenes en el líquido, y no se afecta por el tratamiento antibiótico, ya que no requiere la vitalidad del germen.

Los datos indirectos informan sobre los cambios que en el LA ha producido la presencia de una IIA. Datos indirectos serían, el descenso de los niveles de glucosa por el consumo de esta por parte de los gérmenes; el aumento de los leucocitos y/o la esterasa leucocitaria (enzima producida por los glóbulos blancos) como expresión de la inflamación producida por la IIA; y

el aumento de diferentes interleuquinas y metaloproteasas como consecuencia de la reacción inflamatoria producida por la infección.

b) Interpretación de los resultados: La amniocentesis diagnóstica tiene el potencial para detectar la infección subclínica antes de la aparición de la enfermedad en el feto, permite intervenciones específicas, y así disminuir la morbilidad y mortalidad neonatal^{73, 74, 75, 76}; por lo que ante la evidencia de IIA está indicada la finalización de la gestación.

En aquellos casos en los que el diagnóstico de la corioamnionitis subclínica sea en una gestación previable, parece razonable ofrecer a la paciente la posibilidad bien de interrumpir la gestación, bien de continuarla e intentar un tratamiento dirigido frente al germen diagnosticado con el fin de prolongar la gestación hasta la viabilidad. Hassan et al.⁹⁰ demuestran la posibilidad de llevar a cabo un tratamiento curativo de la corioamnionitis, presentando 5 casos de IIA de los cuales son capaces de curar 4, demostrándolo con amniocentesis post-tratamiento. No obstante, la mayoría de los autores consideran que no es posible un tratamiento de la IIA y recomiendan la finalización de la gestación; como concluyen Gomez et al.⁹³, en un trabajo con 46 pacientes con RPMP. Probablemente la IIA sea sólo curable hoy por hoy en estadios muy iniciales del proceso y siempre que el germen causal sea poco patógeno (en la serie presentada por Hassan et al.⁹⁰, son capaces de curar infecciones por *Ureaplasma urealyticum* en pacientes cuyo único signo ha sido la presencia de un cérvix acortado en semana 20 de gestación; sin embargo fracasan en el intento de tratamiento de una IIA por *Fusobacterium nucleatum*).

Tampoco está clara la conducta a seguir en aquellos casos en los que la corioamnionitis subclínica ha sido diagnosticada en gestaciones extremadamente pretérmino⁷⁷. Parece razonable realizar un manejo individualizado de estas pacientes diagnosticadas de IIA por debajo de la semana 28 de gestación; situando en una balanza los efectos deletéreos para la salud fetal derivados de un ambiente de IIA, frente a las muy probables secuelas derivadas de la propia prematuridad.

En cualquier caso, tanto en los casos de prematuridad extrema, como en los casos de gestaciones por debajo del límite de la viabilidad, es fundamental llevar a cabo un diagnóstico de IIA si es que existe. Ya que el hecho de desconocer la presencia de IIA no va a derivar en un beneficio para la paciente, y no parece ético no realizar una prueba diagnóstica porque el resultado va a dificultar el manejo de la paciente, y no ofrecer por tanto, un diagnóstico de certeza.

II HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

Este estudio se centra en un cuadro clínico extraordinariamente frecuente durante el embarazo, el cual es la amenaza de parto pretérmino y la rotura prematura de membranas pretérmino. Ya hemos analizado y revisado en el capítulo anterior, las causas más sobresalientes que dan lugar a estos cuadros. Destacábamos al respecto, el destacado papel que en su desencadenamiento y etiopatogenia tenía la infección intraamniótica. Conscientes de que la confirmación o exclusión de esta patología, ni es fácil, ni está suficientemente desarrollada en la clínica diaria, nos hemos propuesto profundizar en su conocimiento, con el fin de poder establecer una nueva vía o estrategia diagnóstica que nos facilite el tratamiento más óptimo y eficaz de estos cuadros que de forma tan desfavorable inciden, en ocasiones, sobre la salud fetal.

A tal efecto, la hipótesis de trabajo, puede formularse así: “el análisis microbiológico del entorno fetal intrauterino, concretamente el del estudio del líquido amniótico obtenido mediante amniocentesis, constituye un arma de gran eficacia clínica en el diagnóstico de la etiología y en la dirección obstétrica de la amenaza de parto pretérmino y de la rotura prematura de membranas pretérmino y por tanto, en sus resultados perinatales. Esto se basa en la demostración de que el agente infeccioso es el responsable de un gran porcentaje de casos de amenaza de parto pretérmino y de rotura prematura de membranas pretérmino”.

➤ Objetivos primarios:

- Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba para el diagnóstico de la IIA.
- Comparación entre los diferentes test de diagnóstico de IIA directos e indirectos, así como el establecimiento de puntos de corte dentro del análisis del LA.
- Caracterizar la flora bacteriana y virológica prevalente en la población de estudio.

➤ Objetivos secundarios:

- Realización de un análisis descriptivo de la población de gestantes, que cumpliendo criterios de alto riesgo, son sometidas al estudio.
- Determinar los riesgos de la prueba.
- Determinar la aceptación de la prueba por parte de los pacientes.
- Recoger los datos de morbilidad perinatal de los neonatos cuyas madres fueron sometidas a estudio.
- Ajustar la profilaxis ATB en los casos de RPMP, así como el tratamiento ATB empírico administrado a los neonatos pretérmino.

III MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio ha sido llevado a cabo en el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario La Paz, con la participación y colaboración del Servicio de Laboratorio de Urgencias, Servicio de Microbiología, y Servicio de Anatomía Patológica. Entre marzo de 2011 y octubre de 2011 se realiza un análisis prospectivo de todos los casos en los que se llevó a cabo una amniocentesis diagnóstica. Dicho análisis fue realizado siempre por el mismo observador. La prueba se indicó según los criterios definidos en la población de estudio y el protocolo de actuación. Del mismo modo, la prueba se realizó como parte de la atención clínica estándar de los pacientes, y no para propósitos de investigación. Por lo tanto, sólo en los pacientes que dieron su consentimiento para el procedimiento se llevó a cabo el análisis. Comprende un total de 45 casos de gestantes de menos de 33 semanas (37 embarazos únicos y 8 embarazos gemelares) ingresadas con signos y síntomas clínicos de APP y/o RPMP.

Criterios de inclusión: Gestaciones con RPMP < semana 32, y gestantes con APP con mal pronóstico (< semana 28, bolsa prolapsada en vagina, refractariedad al tratamiento tocolítico, portadora de dispositivo intrauterino (DIU) y/o cerclaje, analítica sospechosa, metrorragia del 2º - 3º trimestre de causa desconocida).

Criterios de exclusión: Corioamnionitis clínica, gestaciones previables, y embarazos en los que el cuadro clínico desaconsejaba la amniocentesis por considerarla un factor de riesgo añadido.

Se realizaron 46 amniocentesis diagnósticas. Las muestras de LA fueron analizadas pormenorizadamente para investigar el papel etiológico de la IIA en el desencadenamiento del parto pretérmino. Las 46 muestras de LA se procesaron para estudio analítico general (determinaciones de glucosa, ácido láctico, y leucocitos), microbiológico (tinción de Gram y cultivos) y de biología molecular (amplificación del ADN bacteriano por PCR). En 30 casos se pudo realizar el estudio anatomopatológico de la placenta con el objeto de descartar o confirmar la presencia de una corioamnionitis histológica.

1.- Población de estudio y protocolo de actuación.

- Gestaciones únicas: dentro de las gestaciones únicas se establecieron una serie de factores de riesgo mediante los cuales se definió la población a estudio. De este modo, la amniocentesis diagnóstica se llevó a cabo en todos los casos de gestaciones únicas en los que se asociaba alguna de las siguientes situaciones:
 - ✓ RPM por debajo de la semana 32 de gestación.
 - ✓ Metrorragia del II o del III trimestre de causa desconocida.
 - ✓ APP por debajo de la semana 28 de gestación.
 - ✓ APP refractaria al tratamiento tocolítico.
 - ✓ Bolsa prolapsada en vagina.
 - ✓ APP en gestante portadora de DIU y/o cerclaje.
 - ✓ APP en gestante con analítica sospechosa de infección.

Las gestaciones por debajo de la viabilidad (< 24 semanas de gestación) fueron excluidas en la sistematización. No obstante, en algunas pacientes se ofertó y se hizo la prueba en virtud del criterio del obstetra responsable.

- Gestaciones múltiples: debido a que existen factores de distorsión en la etiología de la APP y la RPMP en las gestaciones múltiples, la amniocentesis se ofertó individualizando cada caso. En los casos que fueron seleccionados la amniocentesis se realizó sólo en la bolsa del feto que se presentaba primero, ya que según diversos autores^{86, 87}, en la mayoría de los casos la infección asienta en la primera de las bolsas, o en todas; y sólo en una minoría la bolsa que se presenta en primer lugar está libre de infección. El hecho de realizar la amniocentesis sólo en una de las bolsas radica en el intento de minimizar los riesgos de la prueba.

En todos los casos las pacientes estaban ingresadas en el hospital en el momento en el que se indicó la prueba, y permanecieron ingresadas por un mínimo de 48 horas tras la realización de la misma. En todos los casos fue un requisito indispensable la firma del consentimiento informado de “Amniocentesis diagnóstica” del propio centro (anexo 1). Del mismo modo, la prueba fue ofertada a las pacientes siempre por el mismo médico.

Según el protocolo del centro, a las pacientes diagnosticadas de RPMP y que cumplieran criterios de inclusión se les realizó la prueba en las primeras 72 horas tras el ingreso, intentado realizar la prueba antes de la administración de antibióticos profilácticos para el manejo de RPMP (Figura 1).



Figura 1.- Controles en las pacientes diagnosticadas de RPMP en el Hospital Universitario La Paz. RCTG: registro cardiotocográfico. PCT: procalcitonina. PCR: proteína C reactiva. DU: dinámica uterina. EG: edad gestacional.

Según el protocolo del centro, a las pacientes diagnosticadas de APP y que cumplieran criterios de inclusión se les realizó la prueba, permaneciendo después hospitalizadas un mínimo de 48 horas tras la realización de la amniocentesis (Figura 2).



Figura 2.- Controles en las pacientes diagnosticadas de APP en el Hospital Universitario La Paz. RCTG: registro cardiotocográfico. DRAS: sistemático de orina. PCR: proteína C reactiva. DU: dinámica uterina. EG: edad gestacional.

Con el fin de obtener la máxima rentabilidad posible de los cultivos, en los casos en los que había indicación de tratamiento antibiótico (RPMP, APP + analítica sospechosa, bolsa prolapsada en vagina), se intentó demorar el tratamiento hasta la realización de la amniocentesis, si esta fue posible llevarla a cabo en menos de 24 horas; si no fue posible se realizó la prueba tras el inicio de la antibioterapia.

Las mismas consideraciones generales fueron tenidas en cuenta para todas las pacientes que se sometieron a la prueba:

- Se suspendió, si existía, el tratamiento con heparina 12 horas antes y se reanudó 12 horas después de la amniocentesis.
- Se realizó inmunoprofilaxis anti-D en caso de precisarse.
- La paciente permaneció en ayunas 6 horas antes del proceso.
- La paciente permaneció en reposo absoluto y observación en planta de parto 24 horas tras el procedimiento.

- Se administró tratamiento tocolítico en caso de precisarse y nunca de forma profiláctica.

En todos los casos de IIA y edad gestacional superior a 26 semanas se procedió a finalizar la gestación. En los embarazos de menos de 26 semanas se procuró adoptar una conducta obstétrica lo mas conservadora posible, siempre individualizando cada caso.

Este protocolo de actuación fue discutido y aprobado en primer lugar por el propio Servicio de Obstetricia y mas tarde dado a conocer en los Servicios de Neonatología, Microbiología y de Laboratorio. El Servicio de Anatomía Patológica se responsabilizó del estudio placentario de todos los casos.

2.- Ecografía y realización de la amniocentesis.

Las ecografías y las amniocentesis se llevaron a cabo por un mismo equipo examinador, conocedor de la sospecha de corioamnionitis en las pacientes. El equipo utilizado en este estudio fue un Voluson 730 pro (General Electric) y la exploración fue con sonda abdominal de 3'5-5 MHz y transvaginal de 7-9 MHz. Cada examen fue interpretado en tiempo real y documentado en fotografías que se guardaron en formato digital. Tras la biometría fetal, valoración del LA, de la placenta, y estudio doppler del flujo en la arteria umbilical, se procedía a la realización de la amniocentesis.

Con respecto a la técnica de la amniocentesis, no hubo diferencias con respecto a la amniocentesis genética; aplicando antiséptico local (clorhexidina al 1%), preparando un campo de trabajo con paños estériles, guantes estériles para el operador, y utilización de agujas estériles de punción de diferentes calibres según la paciente (Imagen 5).



Imagen 5.- Amniocentesis en paciente con sospecha de corioamnionitis subclínica.

El objetivo fue recoger 18 cc de LA para su estudio, los cuales se repartieron de la siguiente manera:

- 6 cc se repartieron en 2 tubos (3 cc y 3 cc) para estudio en laboratorio de urgencias de glucosa, ácido láctico, y leucocitos (Imagen 6).
- 6 cc fueron enviados a la sección de “exudados” en el laboratorio de microbiología para estudio de gérmenes aerobios, anaerobios, hongos, y tinción de Gram (Imagen 6).
- 2 cc fueron enviados a la sección de “biología molecular” del laboratorio de microbiología para la búsqueda de gérmenes mediante técnicas de PCR (Imagen 6).
- 2 cc fueron enviados a la sección de “infecciones de transmisión sexual (ITS)” del laboratorio de microbiología para búsqueda en el LA de *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, y *Chlamydia trachomatis* (Imagen 6).
- 2 cc fueron enviados a la sección de “virología” del laboratorio de microbiología para la búsqueda de virus en el LA (Imagen 6).



Imagen 6.- Tubos en los que se reparten los 18 cc de LA obtenidos mediante amniocentesis. 1: laboratorio urgencias. 2: exudados. 3: PCR. 4: ITS. 5: virología.

En aquellos casos en los que como consecuencia de un oligoamnios severo no fue posible alcanzar los 18 cc de volumen de muestra, el orden de prioridades fue el siguiente:

1. Prioridad 1: Por este orden, muestra para PCR, laboratorio de urgencias, y exudados.
2. Prioridad 2: Estudio ITS.
3. Prioridad 2: Estudio virología.

3.- Análisis del líquido amniótico.

Una vez obtenida la muestra, esta fue dividida y enviada para estudio al laboratorio de urgencias y al laboratorio de microbiología, a las diferentes secciones. La demora entre la obtención de la muestra y la llegada a los diferentes laboratorios fue inferior a los 5 minutos en todos los casos.

3.1.- Muestra en laboratorio de urgencias.

Los datos solicitados al laboratorio de urgencias en el análisis del LA fueron la concentración de glucosa (expresada en mg/dl), el recuento de leucocitos (expresado en células/mm³), y la concentración de ácido láctico (expresado en mmol/l).

Con respecto a la determinación de la concentración de glucosa en el LA, se interpretaron como normales valores por encima de 10 mg/dl, considerándose valores sugestivos de infección aquellos ≤ 10 mg/dl. El método: tras la centrifugación de la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos en el sobrenadante se determina la concentración de glucosa por espectrofotometría mediante la técnica enzimática glucosa-hexoquinasa en el autoanalizador de bioquímica Dimensión Vista (Siemens Healthcare Diagnostics).

El recuento de leucocitos se realizó mediante visualización al microscopio óptico en cámara de Neubauer. La cámara de Neubauer es una cámara de conteo adaptada al microscopio de campo claro. Se trata de un portaobjetos con una depresión central en el fondo en la que se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadrícula. Es un cuadrado de 3x3 mm, con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25 mm. La cuadrícula consta de cuatro cuadrantes, cada uno de ellos corresponde a 1 mm². La depresión central del cubre objetos está hundida 0.1 mm respecto a la superficie, de forma que cuando se cubre con un cubreobjetos, este dista de la superficie marcada 0.1 mm y el volumen comprendido es 0.1 mm³, es decir 0.1 μ L. El recuento se realiza con objetivo de 100 aumentos en los cuatro cuadrantes y se calcula la media obtenida entre los cuatro recuentos. Este valor se multiplica por 10 y constituye el recuento definitivo en número células/mm³. Fueron considerados valores normales aquellos que indicaban menos de 50 leucocitos/mm³, considerándose valores sugestivos de infección ≥ 50 leucocitos/mm³.

La determinación de ácido láctico en el LA se realizó con el fin de definir valores de corte que sugirieran infección. El método: Tras la centrifugación de la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos en el sobrenadante se determina la concentración de ácido láctico por amperometría en el equipo de gasometría ABL-90 (Radiometer Copenhagen).

Los resultados estuvieron disponibles entre 60 y 90 minutos después de la amniocentesis. Se consideró que la presencia de valores sugestivos de infección en la determinación de glucosa y en el recuento leucocitario eran suficientes para el diagnóstico de corioamnionitis subclínica. En cambio, la alteración en uno sólo de los parámetros no se consideró suficiente, y se mantuvo una actitud expectante a la espera de confirmación por parte del laboratorio de microbiología. No se les dio aplicación clínica a los valores de ácido láctico.

3.2.- Muestra en laboratorio de microbiología. Biología molecular.

Los 2 cc de LA destinados a estudio por parte de la sección de biología molecular, fueron evaluados mediante técnicas de PCR. La PCR (por sus siglas en inglés "Polymerase Chain Reaction"), es una técnica cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde. Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad virus o bacterias causantes de una enfermedad. En este estudio se utilizaron 2 técnicas diferentes de PCR:

- PCR 16S: PCR universal destinada a la detección y amplificación de ADN bacteriano de cualquier germen procariota. Cuando esta PCR 16S fue positiva, se procedió a la piro-secuenciación del material genético detectado con el fin de identificar el germen responsable.
- PCR específica para *Mycoplasma genitalium* y *Ureaplasma urealyticum* (debido a la similitud entre el material genético de ambos

microrganismos, no es posible diferenciar cual es detectado): destinada a la detección de forma única y específica de estos gérmenes.

Los resultados estuvieron disponibles entre 5 y 24 horas tras la realización de la amniocentesis. Cuando desde la sección de biología molecular se informó sobre una PCR positiva, la paciente fue diagnosticada de corioamnionitis subclínica.

3.3.- Muestra en laboratorio de microbiología. Exudados.

Los 6 cc de LA destinados a cultivo, fueron procesados de la siguiente manera: la muestra fue centrifugada, desechándose el sobrenadante, y sembrándose el producto en 4 medios diferentes. Además se realizó tinción de Gram para el examen directo de gérmenes Gram +.

La muestra se sembró en los siguientes medios: agar sangre (incubación en estufa de CO₂), agar chocolate (incubación en estufa de CO₂), agar sangre enriquecido (vitamina K1 y hemina) para anaerobiosis (incubación en anaerobiosis), y siembra en medio líquido (tioglicolato). Las muestras fueron evaluadas cada 24 horas, salvo la primera evaluación de la siembra en anaerobiosis que se realizó a las 48 horas.

El análisis de la tinción de Gram estuvo disponible en un máximo de 2 horas tras la amniocentesis, los cultivos no fueron interpretados como negativos hasta evidenciarse 1 semana sin crecimiento bacteriano. En caso de comprobarse crecimiento bacteriano en los cultivos, o bien de identificarse gérmenes en la tinción de Gram, la paciente se diagnosticó de corioamnionitis subclínica. Cuando se produjo crecimiento bacteriano se llevó a cabo la identificación del germen y la realización de un antibiograma en busca de las sensibilidades bacterianas.

3.4.- Muestra en laboratorio de microbiología. Infecciones de transmisión sexual (ITS).

Los 2 cc de LA destinado al laboratorio de ITS, se utilizaron para sembrar cultivos para *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*. La muestra se envía al laboratorio lo más rápidamente posible, ya que los micoplasmas son muy sensibles a la desecación y al calor. Una vez recibida la muestra, se centrifuga a 600 rpm durante 15 minutos decantándose el sobrenadante, y el sedimento se inoculara en un medio de transporte, de tal forma que si se retrasa el cultivo la muestra permanece estable 20 horas a temperatura ambiente o 56 a 2-8 grados. El contenido del medio de transporte se trasvasa a un nuevo medio de crecimiento ambos medios contienen arginina, urea, rojo fenol, cisteína, suero de caballo, extracto de levadura, y caldo de micoplasmas. El medio de crecimiento se siembra en una galería que se incuba a 37 grados 24-48 horas. El medio de cultivo utilizado en nuestro laboratorio para la detección de micoplasmas urogenitales es un medio comercial "Mycofast Evolution 2" basado en la capacidad que tienen *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* de metabolizar respectivamente la urea y la arginina. El crecimiento de estos micoplasmas se visualiza por el viraje en el medio de un indicador coloreado (el rojo fenol), del amarillo-anaranjado al rojo, lo que traduce la alcalinización debido a la liberación de amoníaco por parte de estos microorganismos (si están presentes en la muestra). Además de la identificación, este medio permite un recuento de los gérmenes, y detecta la sensibilidad o resistencia a tres antibióticos roxitromicina, doxiciclina, y ofloxacino.

Los resultados estuvieron disponibles en 48 horas tras la amniocentesis. La positividad de los cultivos implicó el diagnóstico de corioamnionitis subclínica.

3.5.- Muestra en laboratorio de microbiología. Virología.

Los 2 cc de LA destinados a estudio virológico fueron también objeto de técnicas de PCR, para la detección de enterovirus y virus del grupo herpes (herpes simple tipo 1, herpes simple tipo 2, CMV, virus de Epstein-Barr, virus varicela-zoster, herpes tipo 6).

Los resultados estuvieron disponibles 1 semana tras la amniocentesis. Los resultados fueron interpretados de forma retrospectiva con interés investigador, y no se les dio aplicación clínica.

4.- Análisis anatomopatológico de las placentas.

El análisis anatomopatológico de la placenta fue considerado el patrón oro para el diagnóstico de corioamnionitis. En aquellos casos en los que no se finalizó la gestación en las 2 semanas siguientes a la prueba, se consideró que el LA no estaba infectado en el momento de la prueba, ya que el análisis de la placenta más de 14 días tras la realización de la prueba, no se consideró indicativo de la situación en las 2 semanas previas.

El examen de las placentas se llevó a cabo de forma macroscópica y microscópica con la realización de múltiples cortes de la placenta y del cordón umbilical. En los casos de gestación múltiple con más de una placenta, estas fueron identificadas según el orden de la presentación fetal. Los cortes examinados al microscopio óptico fueron teñidos con hematoxilina-eosina. En aquellos casos en los que existieron dudas sobre el diagnóstico se llevaron a cabo técnicas de inmunohistoquímica para la identificación de infiltrados de polimorfonucleares. Los resultados estuvieron disponibles 1 semana tras la obtención de la pieza.

En los casos en los que se diagnosticó corioamnionitis histológica, se estableció una graduación de la afectación tanto en el compartimento fetal como en el compartimento materno. Los niveles de afectación se establecieron en base a la clasificación aportada por Redline²⁵ para el diagnóstico de corioamnionitis histológica (Tabla 2).

5.- Análisis estadístico.

Los datos se han analizado mediante el programa estadístico SPSS 9. La descripción de los datos cualitativos se realiza en forma de frecuencias absolutas y porcentajes y los datos cuantitativos mediante media, mediana, rango y desviación típica según sea la distribución de los datos.

Para estudiar la asociación entre las variables cualitativas se ha utilizado el test chi-cuadrado o el test exacto de Fisher. Se ha calculado el índice Kappa como medida de concordancia. Se ha estimado el área bajo la curva ROC, para estudiar la capacidad discriminante de leucocitos, glucosa y ácido láctico. Se ha utilizado el test de ANOVA y Bonferroni como análisis post hoc en el estudio de la relación entre la edad gestacional al parto con la corioamnionitis y funisitis histológica. Para evaluar la validez del diagnóstico microbiológico de la prueba se han calculado la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, proporción de falsos positivos y negativos, exactitud de la prueba, y el índice J de Youden.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales y como valores significativos, aquellos $p < 0.05$.

Con respecto a las gestantes, las variables analizadas han sido las siguientes:

- ✚ Semana gestacional en el momento de la amniocentesis.
- ✚ Gemelaridad.
- ✚ Indicación de la prueba.
- ✚ Edad de las pacientes.
- ✚ Paridad de las pacientes.
- ✚ Tratamiento antibiótico previo a la amniocentesis.
- ✚ Complicaciones en la realización de la prueba.
- ✚ Presencia de corioamnionitis histológica en las placentas.

Con respecto al estudio del LA, las variables analizadas han sido las siguientes:

- ✚ Presencia de infección en LA.
- ✚ Germen identificado en el LA.
- ✚ Método de identificación del germen.
- ✚ Determinaciones en la muestra en función del volumen de la misma.
- ✚ Nivel de glucosa, leucocitos, y ácido láctico en el LA.

Con respecto a los neonatos, las variables analizadas han sido las siguientes:

- ✚ Edad gestacional al nacimiento.
- ✚ Peso al nacimiento.
- ✚ Vía del parto.
- ✚ pH en arteria umbilical al nacimiento.
- ✚ Sexo del neonato.
- ✚ Desarrollo de NEC.
- ✚ Desarrollo de daño neurológico.
- ✚ Días y forma de oxigenoterapia.
- ✚ Desarrollo de DBP.
- ✚ Presencia de infección al nacimiento.
- ✚ Desarrollo de sepsis nosocomial.

IV RESULTADOS

1.- Población de estudio.

Entre marzo de 2011 y octubre de 2011 se seleccionaron un total de 51 pacientes, de las cuales, la prueba fue realizada en 45 (89%) de ellas. Se realizaron un total de 46 amniocentesis ya que en uno de los casos de gestación gemelar, la prueba fue realizada en ambas bolsas amnióticas. Además dos amniocentesis se realizaron en la misma paciente con 25 días de diferencia, ya que se trataba de un caso de RPMP que permaneció ingresada en actitud expectante hasta que se indicó la prueba por sospecha analítica de corioamnionitis subclínica. En los 6 (11%) casos en los que no se realizó la prueba, estando dentro de protocolo, los motivos fueron los siguientes (figura 3):

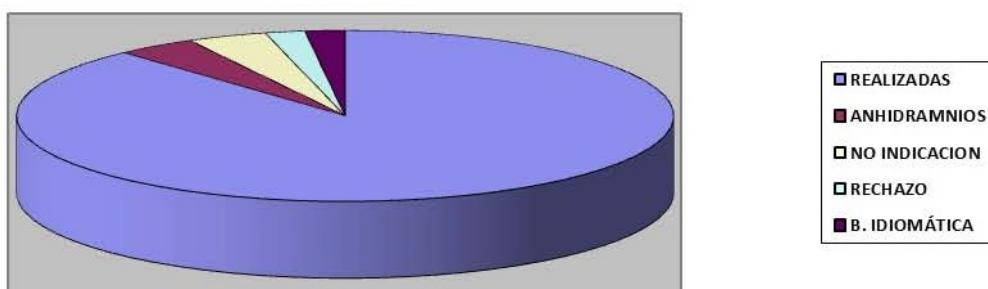


Figura 3.- Distribución de los 51 casos seleccionados.

- 2 casos (4'3%): oligoamnios por RPMP que imposibilita la extracción de LA en dos casos de RPMP. En ambos casos se trató de corioamnionitis, demostrada mediante el examen anatomopatológico de la placenta tras el parto. Una de las pacientes desarrolló una corioamnionitis clínica, por lo que se finalizó la gestación; y en el otro caso se realizó una cesárea urgente por riesgo de pérdida del bienestar fetal tras prolapso del cordón umbilical. En ambos casos la gestación no se prolongó más de 4 días tras el ingreso, naciendo ambos fetos con un peso inferior a los 1000 g.
- 2 casos (4'3%): Una APP < 28 semanas y una RPMP por condiciones clínicas desfavorables. En el caso de la RPMP se finalizó la gestación en semana 34, y en el caso de la APP se produjo el parto espontáneo en semana 25. No se identificó corioamnionitis en las placentas.

- 1 caso (2'15%): barrera idiomática importante en el caso de una paciente de Sri Lanka que presentaba la bolsa prolapsada en vagina en semana 26. La incapacidad para transmitir a la paciente los riesgos de la prueba y las consecuencias derivadas de su realización, hicieron que se excluyera del protocolo. Se produjo el parto de forma espontanea en semana 28, confirmándose corioamnionitis en el examen posterior de la placenta
- 1 caso (2'15%): rechazo de la paciente al procedimiento. Tras una semana de ingreso la paciente fue dada de alta con diagnostico de sospecha de RPMP no confirmada. La gestación llegó al término.

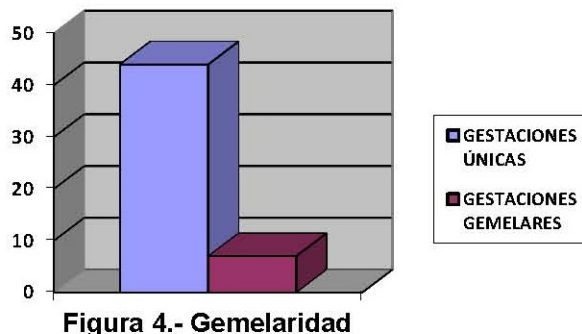


Figura 4.- Gemelaridad

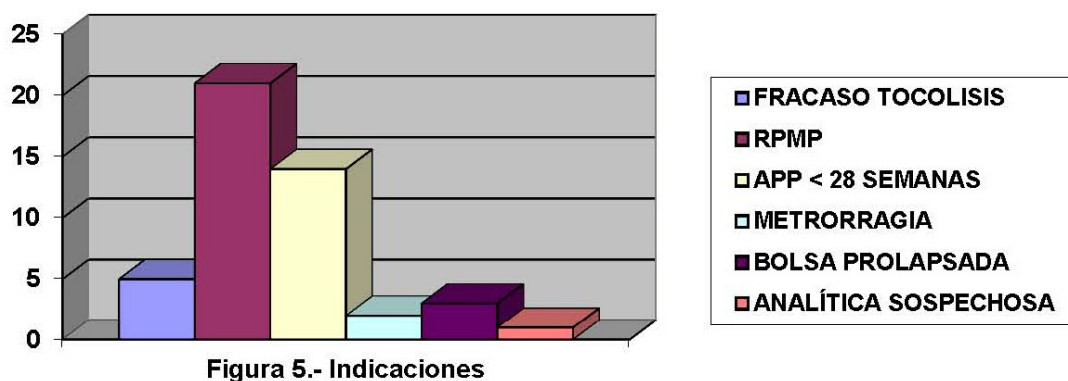
De las 51 pacientes seleccionadas, 44 (87%) fueron gestaciones únicas que se ajustaban a criterios de protocolo, y 7 (13%) fueron gestaciones gemelares seleccionadas tras un análisis individualizado de su situación

(figura 4). No hubo pérdidas en el seguimiento de las pacientes a las que se les realizó la amniocentesis. El parto fue por vía vaginal en 18 de los casos y se realizaron 26 cesáreas. En total se atendió el parto de 51 neonatos vivos.

1.1.- Indicación.

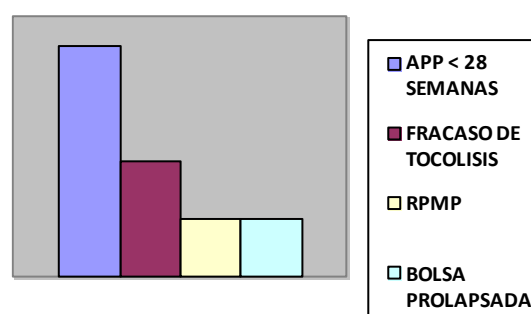
Las indicaciones por las cuales se realizaron las 46 amniocentesis se resumen de la siguiente manera (figura 5):

- ✓ Fracaso de tocolisis: 5 casos (10'9%).
- ✓ RPMP: 21 casos (45'7%).
- ✓ APP < 28 semanas: 14 casos (30'4%).
- ✓ Metrorragia del 2º-3º trimestre de causa desconocida: 2 casos (4'4%).
- ✓ Bolsa prolapsada en vagina: 3 casos (6'5%).
- ✓ Analítica sospechosa: 1 caso (2'2%).



El único caso en el que se realizó la prueba bajo la indicación de “analítica sospechosa”, corresponde a una gestante ingresada por RPMP en la que tras 25 días de ingreso se detectó leucocitosis y aumento de los reactantes de fase aguda en un control analítico de rutina.

De las 8 amniocentesis realizadas en gestaciones gemelares, 4 (50%) fueron por APP < 28 semanas, 2 (25%) por fracaso de tocolisis, 1 (12'5%) por RPMP, y 1 (12'5%) por bolsa prolapsada en vagina (figura 6).



1.2.- Semanas de gestación.

De las 46 amniocentesis realizadas, todas se llevaron a cabo entre la semana 24 y 32 de gestación salvo 1 que se realizó en la semana 17. La distribución por semanas de gestación se resume en la tabla 6:

SEMANA GESTACIONAL	NÚMERO (%)
17	1 (2'2%)
24	8 (17'4%)
25	9 (19'6%)
26	6 (13%)
27	6 (13%)
28	5 (10'9%)
29	5 (10'9%)
30	2 (4'3%)
31	2 (4'3%)
32	2 (4'3%)

Tabla 6.- Número de amniocentesis según las semanas de gestación.

La edad gestacional media en el momento de la indicación de la prueba fue de 27 con una desviación estándar de 2'6 semanas. Por percentiles:

- Percentil 25: semana 25 de gestación.
- Percentil 50: semana 27 de gestación.
- Percentil 75: semana 29 de gestación.

1.3.- Edad y paridad de las pacientes.

Con respecto a la paridad de las 45 pacientes sobre las que se realizó la prueba, 28 (63%) fueron primíparas, y las 17 restantes (37%) multíparas (figura 7).

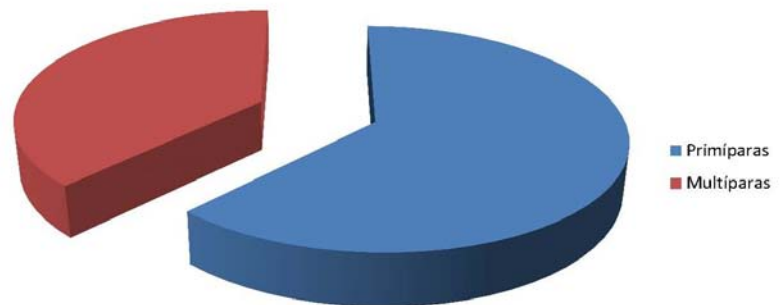


Figura 7.- Paridad de las pacientes.

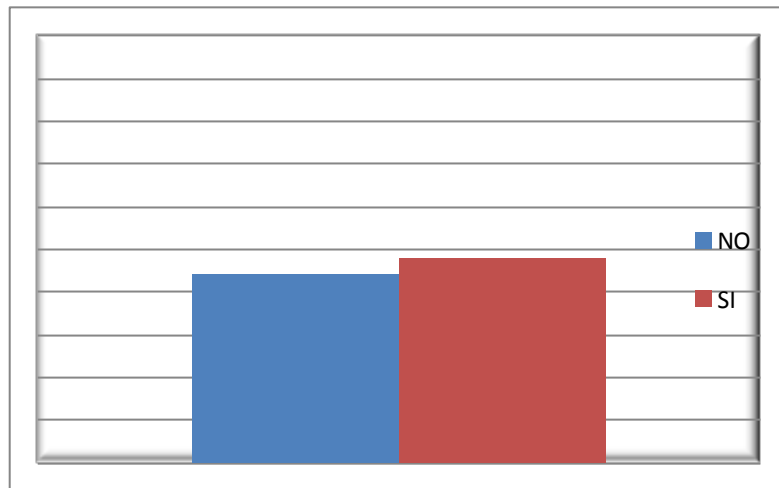
La edad media de las pacientes fue de 33 años, con una desviación estándar de 6'5 años. La paciente de mayor edad contaba 46 años, y la de menor edad, contaba 17 años. Por percentiles:

- Percentil 25: 28 años.
- Percentil 50: 34 años.
- Percentil 75: 39 años.

1.4.- Tratamiento antibiótico previo.

De las 46 amniocentesis realizadas, en 24 (52'2%) de ellas la paciente había recibido antibiótico previo a la realización de la prueba, y 22 (47'8%) no lo había recibido (figura 8). La indicación de la antibioterapia fue la siguiente:

- 20 casos RPMP.
- 2 casos de bolsa prolapsada en vagina.
- 2 casos de APP < 28 semanas con analítica sospechosa.



El tratamiento antibiótico utilizado según protocolo del centro fue ampicilina + gentamicina (22 casos). En un caso de bolsa prolapsada en vagina se utilizó clindamicina + gentamicina, y en otro de RPMP se usó ampicilina + eritromicina (pautas iniciadas en otro centro) (figura 9).

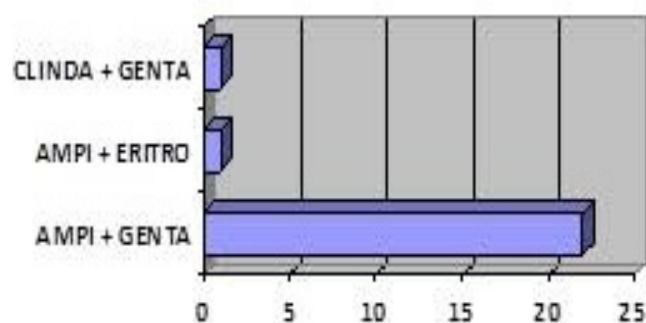


Figura 9.- Antibioterapia pre-prueba utilizada.

1.5.- Muestras de líquido amniótico obtenidas tras la amniocentesis.

MUESTRA	MYCOPLASMA / UREAPLASMA	PCR 16S	CULTIVO BACTERIAS Y HONGOS. T GRAM.	PCR UREAPLASMA	GLUCOSA	LEUCOCITOS Y ÁC. LÁCTICO	ESTUDIO VIRUS
1	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√
4	-	√	-	√	√	√	-
5	√	√	√	-	√	√	√
6	√	√	√	√	√	√	√
7	√	√	√	√	√	√	√
8	√	√	√	√	√	√	√
9	√	√	√	√	√	√	√
10	√	√	√	√	√	√	√
11	√	√	√	√	√	√	√
12	√	√	√	√	√	√	√
13	√	√	√	√	√	√	√
14	√	√	√	√	√	√	√
15	√	√	√	√	√	√	√
16	√	√	√	√	√	√	√
17	√	√	√	√	√	√	√
18	√	√	√	√	√	√	√
19	√	√	√	-	√	√	√
20	-	√	-	√	-	-	-
21	√	√	√	-	√	√	√
22	√	√	√	√	√	√	√
23	√	√	√	√	√	√	√
24	√	√	√	√	√	√	√

25	√	√	√	√	√	√	√
26	√	√	√	√	-	√	√
27	√	√	√	√	√	√	√
28	√	√	√	√	√	√	√
29	√	√	√	√	√	√	√
30	√	√	√	√	√	√	-
31	√	√	√	√	√	√	√
32	√	√	√	√	√	√	-
33	√	√	√	√	√	√	√
34	√	√	√	√	√	√	√
35	√	√	√	√	√	√	√
36	√	√	√	√	√	√	√
37	√	√	√	√	√	√	√
38	-	√	√	√	√	√	-
39	√	√	√	√	√	√	√
40	-	√	-	√	√	√	-
41	√	√	√	√	√	√	√
42	√	√	√	√	√	√	√
43	√	√	√	√	√	√	√
44	√	√	√	√	√	√	√
45	√	√	√	√	√	√	√
46	√	√	√	√	√	√	√

Tabla 7.- Análisis realizados a las muestras obtenidas de líquido amniótico. √ = si, - = no.

De las 46 amniocentesis realizadas, fue posible realizar los siguientes procedimientos en el LA:

- a) En todos los casos fue posible la aplicación de la PCR universal (PCR 16S). No obstante debido a que en algunos casos la muestra se agotó

en el procedimiento, no siempre fue posible la aplicación de la PCR específica para *Ureaplasma urealyticum*: no fue posible realizarla en 3 de las muestras (muestra nº 5, 19, 21).

b) En 6 casos (muestras nº 4, 20, 30, 32, 38, 40) no fue posible obtener todo el volumen de LA requerido para llevar a cabo todas las determinaciones. La causa fue el oligoamnios severo que presentaban las pacientes.

- Cultivo *Mycoplasma hominis* / *Ureaplasma urealyticum*: no se pudo llevar a cabo en 4 de las muestras (muestras nº 4, 20, 38, 40).
- Cultivo de bacterias, hongos, y tinción de Gram: no se pudo llevar a cabo en 3 de las muestras (muestras nº 4, 20, 40).
- Estudio virológico: no se pudo llevar a cabo en 6 de las muestras (muestras nº 4, 20, 30, 32, 38, 40).
- Determinación de glucosa: no se pudo llevar a cabo en 2 de las muestras (muestras nº 20, 26).
- Determinación de leucocitos y de ácido láctico: no se pudo llevar a cabo en 1 de las muestras (muestra nº 20).

c) En 35 (78%) de las 46 muestras, fue posible llevar a cabo todas las determinaciones (figura 10).

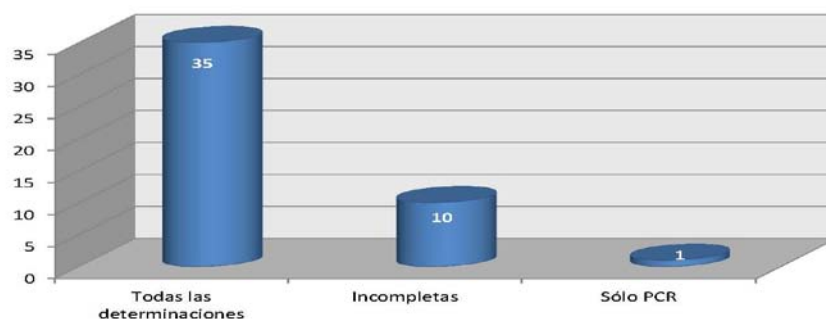


Figura 10.- Número de casos según determinaciones.

2.- Complicaciones en la realización de la prueba.

De las 46 amniocentesis realizadas, 42 (91'3%) de ellas cursaron sin ningún tipo de complicación. De las 4 restantes, 3 (6'5%) fueron autolimitadas, y 1 caso (2'2%) requirió la finalización de la gestación (Figura 11).

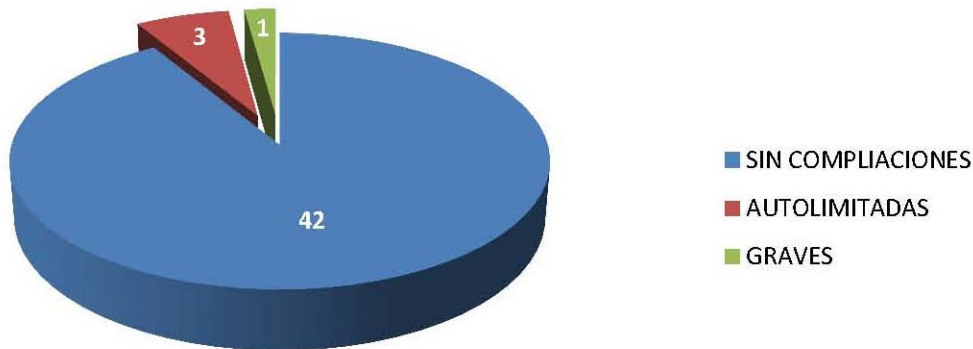


Figura 11.- Complicaciones.

Las complicaciones fueron las siguientes:

- En 2 de los casos la punción transplacentaria dio lugar a la obtención de un LA contaminado con sangre, por lo que los resultados del análisis bioquímico del LA (glucosa, leucocitos, ácido láctico) no fueron valorables. El sangrado fue escaso y autolimitado sin repercusión materno-fetal.
- En otro de los casos la punción accidental del cordón produjo una hemorragia funicular que contaminó el LA con sangre, por lo que los resultados del análisis bioquímico del LA (glucosa, leucocitos, ácido láctico) no fueron valorables. El sangrado fue escaso y autolimitado sin repercusión fetal.
- El último de los casos dio lugar a una complicación grave en una paciente diagnosticada de RPMP en semana 29+2, ya que tras la realización de la amniocentesis (la cual cursó sin incidencias), la paciente comenzó con dinámica uterina regular y un patrón cardiotocográfico fetal patológico con desaceleraciones atípicas; por lo que se indicó una cesárea urgente por riesgo de pérdida del bienestar

fetal. El neonato presentó una anemia intensa al nacimiento que requirió transfusión de varios concentrados de hematíes.

3.- Análisis anatomopatológico de las placentas y evolución clínica de las pacientes (Gold Standard).

De las 46 amniocentesis realizadas, se derivó el análisis de las placentas de 30 gestaciones (tabla 8):

- 6 gestaciones bicoriales: de las cuales 3 de los casos no mostraban lesiones histológicas significativas; y de los otros 3 casos, en 2 de ellos sólo se encontró infección en la placenta del gemelo situado en primer lugar en la presentación, y en el caso restante, se encontró corioamnionitis histológica en ambos discos placentarios.
- 24 gestaciones únicas: de las cuales 7 de los casos no mostraban lesiones histológicas significativas, y 17 mostraban corioamnionitis.
- En el resto de los casos, no se obtuvo el análisis anatomopatológico de la placenta, ya que la gestación no finalizó en las 3 semanas posteriores a la realización de la prueba, por lo que el resultado del análisis de las placentas 3 semanas después de la prueba, no se consideró representativo de la situación en el momento del examen.

CORIOAMNIONITIS AGUDA	10 (21'7%)
CORIOAMNIONITIS AGUDA + FUNISITIS AGUDA	10 (21'7%)
SIN LESIONES HISTOLÓGICAS / GESTACIÓN EN CURSO	26 (56'5%)
NÚMERO DE CASOS	46 (100%)

Tabla 8.- Análisis anatomopatológico de las placentas y evolución clínica de las pacientes (Gold Standard).

El número de casos de infección demostrada mediante el análisis anatomopatológico de las placentas fue de 20 (43'5%). Es decir, la incidencia de infección fue de 4'35 de cada 10 pacientes seleccionadas. Ninguna paciente desarrolló una corioamnionitis clínica (según criterios SEGO³⁶). De los 20 casos de corioamnionitis, 10 se acompañaron de inflamación aguda (funisitis aguda) del cordón umbilical.

4.- Resultados de la amniocentesis.

4.1.- Resultados del laboratorio de microbiología.

En su conjunto, los resultados derivados del análisis microbiológico del LA, detectaron infección en 15 (32'6%) de las 46 amniocentesis realizadas (figura 12).

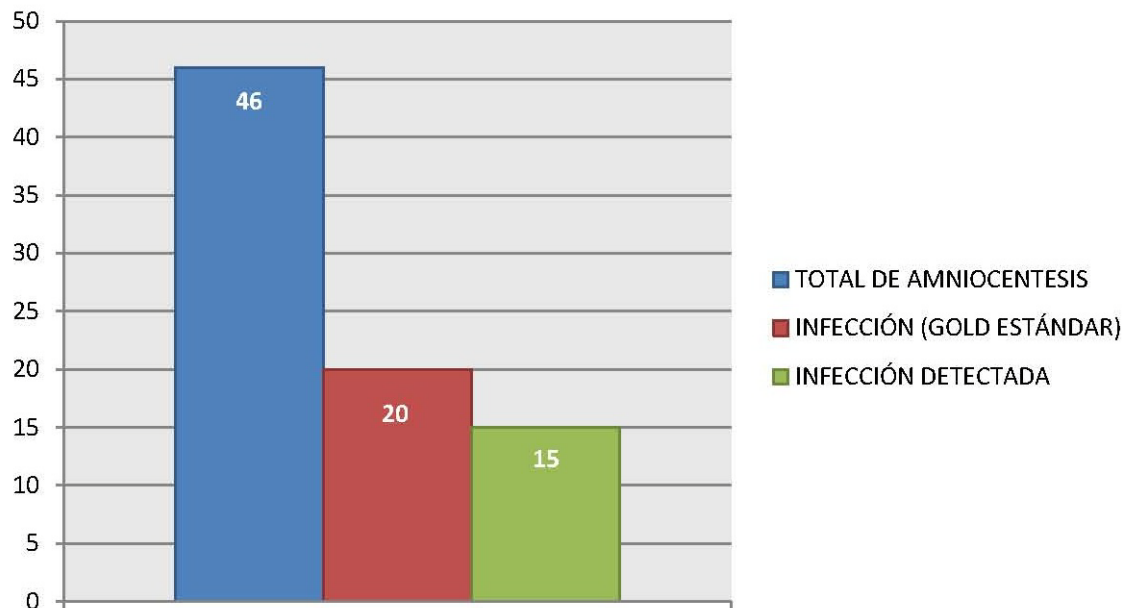


Figura 12.- Capacidad diagnóstica de la prueba.

Al comparar estos datos, con los ofrecidos por el análisis anatomopatológico de las placentas (Gold Estándar), se derivan los siguientes datos:

- Sensibilidad de la prueba: 75% (IC 53'1% - 88'8%).
- Especificidad de la prueba: 100% (IC 87'1% - 100%).
- Valor predictivo positivo de la prueba: 100% (IC 79'6% - 100%).
- Valor predictivo negativo de la prueba: 83'9% (IC 67'4% - 92'9%).
- Proporción de falsos positivos de la prueba: 0% (IC 0 - 12'9%).
- Proporción de falsos negativos de la prueba: 25% (IC 11'2% - 46'9%).
- Exactitud de la prueba: 89'1% (IC 77% - 95'3%).

- Índice J de Youden de la prueba: 0'8. (El índice J de Youden es un índice resumen de la validez de una prueba diagnóstica que combina la sensibilidad y la especificidad. El valor máximo es 1 cuando hay concordancia perfecta).

a) Cultivo de aerobios, anaerobios, y hongos. Tinción de Gram.

43 muestras fueron procesadas con este fin. No se produjo el crecimiento de ningún germen anaerobio ni de hongos. En 3 de las muestras se cultivó y se produjo el crecimiento de gérmenes aerobios. En 2 de los casos se trató de *Streptococcus mitis* / *oralis*, y en el restante se trató de un *Streptococcus anginosus*. En los 3 casos fue posible la realización de antibiograma (anexo 2, 3, y 4). Con respecto a la tinción de Gram, esta fue capaz de identificar cocos Gram +, en los 3 casos en los que el cultivo fue positivo; en 11 casos no identificó ni leucocitos ni bacterias; y en los 29 restantes se identificaron leucocitos pero no bacterias (Figura 13).

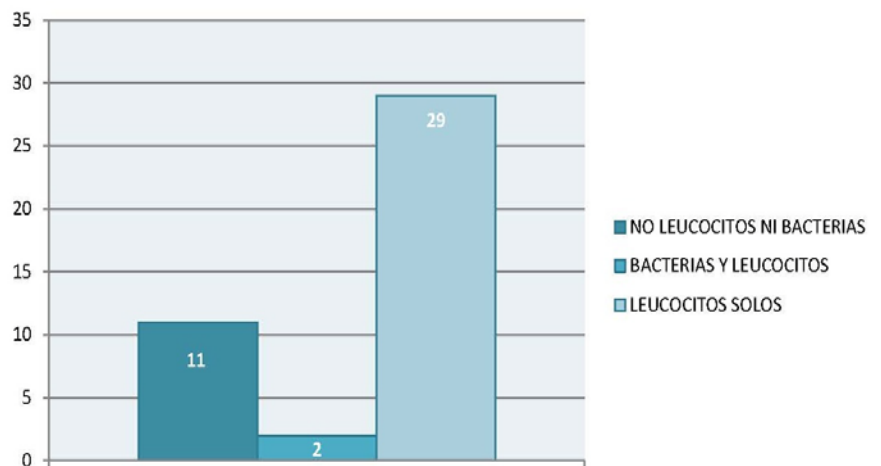


Figura 13.- Resultados de la aplicación de la tinción de Gram en el líquido amniótico.

b) Cultivo para *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*.

42 muestras se procesaron para cultivo específico de estos dos gérmenes. No hubo cultivos positivos para *Mycoplasma hominis*, en cambio; el cultivo de *Ureaplasma urealyticum* fue positivo en 7 (15'2%) de las 42 muestras

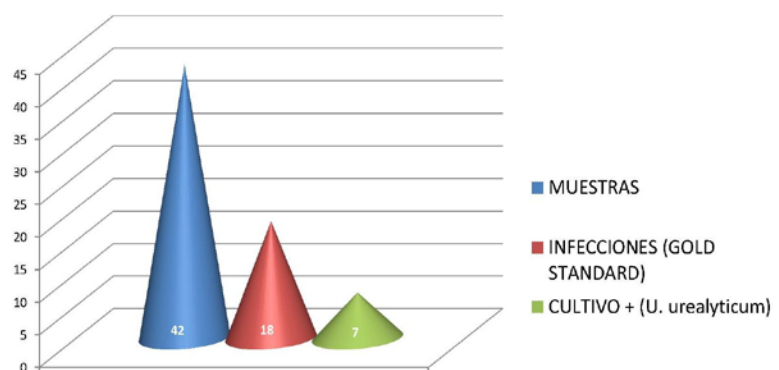


Figura 14.- Infecciones detectadas mediante cultivo de *Ureaplasma urealyticum*.

procesadas (figura 14). En 3 de los 7 casos fue posible la realización de antibiograma (anexo 5, 6, 7).

c) PCR 16S.

Todas las muestras (46) fueron procesadas para PCR 16S. La PCR 16S fue capaz de encontrar infección en 6 (30%) de los 20 casos de infección (figura 15).

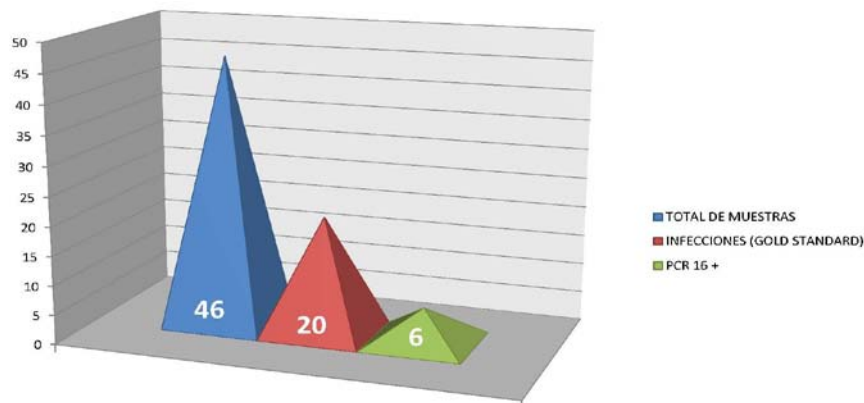


Figura 15.- Infecciones detectadas mediante PCR 16S.

d) PCR Mycoplasma genitalium y Ureaplasma urealyticum.

De las 43 muestras procesadas, esta prueba fue positiva en 12 (26'1%) de los casos, detectando infección en un 60% de los casos detectados por el Gold Standard (figura 16).

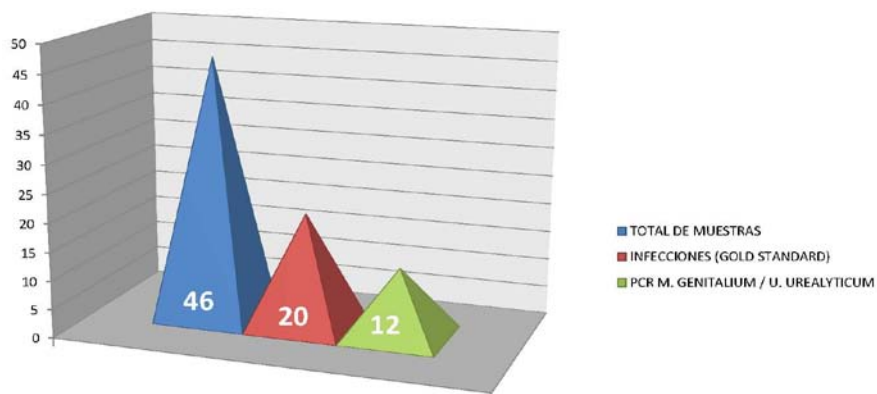


Figura 16.- Infecciones detectadas mediante PCR M. genitalium y U. realyticum.

e) PCR enterovirus y virus del grupo herpes.

En las 40 muestras examinadas para el estudio de virus, no se encontró positividad para enterovirus, y en una de las muestras se amplificó material genético correspondiente a CMV, como hallazgo casual en una paciente diagnosticada de IIA por *Ureaplasma urealyticum*.

f) Gérmenes aislados.

En su conjunto, las diferentes técnicas del laboratorio de microbiología fueron capaces de diagnosticar infección en 15 (75%) de los casos de IIA demostrada según el Gold Standard. Los gérmenes causantes de las infecciones fueron los siguientes (figura 17):

- ✓ 2 casos (10%) de *Fusobacterium nucleatum*: ambos hallados mediante PCR 16S. No se logró cultivar el germen.
- ✓ 2 casos (10%) de *Streptococo mitis / oralis*^{*}: fueron hallados mediante PCR 16S y además se produjo crecimiento en el cultivo. En ambos casos fue posible la realización de antibiograma (anexo 2).
- ✓ 1 caso (5%) de *Streptococo anginosus*: fue hallado mediante PCR 16S y además se produjo crecimiento en el cultivo. Fue posible la realización de antibiograma (anexo 3).
- ✓ 10 casos (50%) de *Ureaplasma urealyticum / Micoplasma genitalium*^{*}: el cultivo fue positivo en 7 (35%) de las 20 infecciones. La PCR fue positiva en 9 (45%) de las 20 infecciones. 1 de los casos hallados en el cultivo no fue detectado por la PCR, mientras que 2 de los casos hallados mediante PCR no fueron detectados en el cultivo. En los siete casos en los que se consiguió el crecimiento mediante cultivo fue posible la realización de antibiograma (anexo 4).
- ✓ 1 caso (5%) en el que la PCR 16S fue positiva pero no fue posible la piro-secuenciación del material genético detectado con el fin de identificar el germen responsable.
- ✓ 1 caso (5%) de CMV^{**}.

* En uno de los casos se encontraron 2 gérmenes: *Ureaplasma urealyticum* y *Streptococo mitis / oralis*.

** En uno de los casos de infección por *Ureaplasma urealyticum*, además se encontró IIA por CMV.

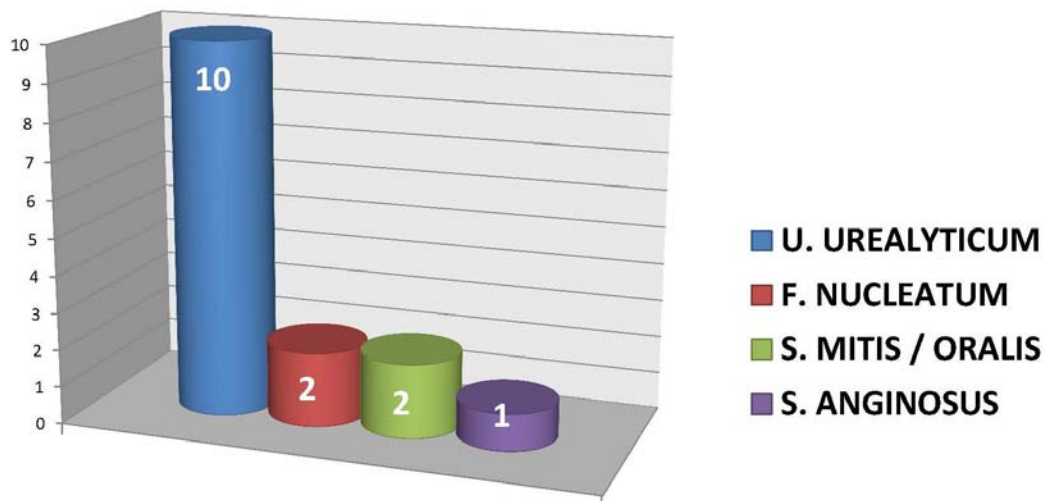


Figura 17.- Bacterias detectadas en el líquido amniótico.

4.2.- Resultados del laboratorio de urgencias.

Con el conjunto de las determinaciones de glucosa, ácido láctico, y leucocitos en LA; se llevo a cabo la elaboración de curvas ROC. El área bajo la curva ROC mide la capacidad discriminante de las pruebas, cuanto más próximo a 1 mejor.

a) Curvas ROC para ácido láctico y leucocitos (figura 18).

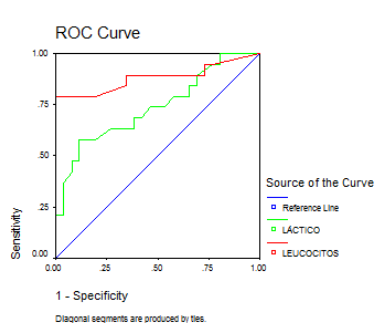


Figura 18.- Curvas ROC para leucocitos y ácido láctico.

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s)	Positive if Greater Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
LEUCOCITOS	-1.00	1.000	1.000
	1.00	.947	.769
	2.50	.947	.731
	4.00	.895	.731
	6.00	.895	.577
	7.50	.895	.500
	9.00	.895	.423
	11.50	.895	.346
	14.00	.842	.346
	17.50	.789	.192
	25.00	.789	.154
	48.50	.789	.000
	56.50	.789	.000
	66.50	.737	.000
	85.00	.684	.000
	115.00	.632	.000
	140.00	.579	.000
	307.50	.526	.000
	510.00	.474	.000
	577.50	.421	.000
	680.00	.368	.000
	930.00	.316	.000
	1200.00	.263	.000
	1612.00	.158	.000
	2397.00	.105	.000
	5185.00	.053	.000
	7501.00	.000	.000
LÁCTICO	4.600	1.000	1.000
	5.650	1.000	.962
	5.850	1.000	.885
	6.050	1.000	.846
	6.150	1.000	.808
	6.450	.947	.808
	6.750	.947	.769
	6.850	.895	.692
	7.000	.842	.692
	7.150	.842	.654
	7.450	.789	.654
	7.750	.789	.577
	7.900	.737	.538
	8.050	.737	.500
	8.300	.737	.462
	8.600	.684	.423
	8.850	.684	.385
	9.100	.632	.385
	9.300	.632	.346
	9.450	.632	.308
	9.550	.632	.269
	9.700	.579	.192
	9.950	.579	.115
	10.100	.526	.115
	10.300	.474	.115
	10.650	.474	.077
	11.200	.421	.077
	11.950	.368	.038
	12.650	.316	.038
	13.150	.263	.038
	13.450	.211	.038
	13.750	.211	.000
	14.300	.158	.000
	15.300	.105	.000
	17.000	.000	.000

The test result variable(s): LEUCOCITOS, LÁCTICO has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group.

- a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

En el caso de los leucocitos se observa que el mejor valor como punto de corte es 56'5, alcanzándose una sensibilidad del 78'9% y una especificidad del 100% para el diagnóstico de IIA.

Los datos tras el análisis de la curva ROC del ácido láctico muestran que el mejor valor como punto de corte es 9'95, alcanzándose una sensibilidad del 57'9% y una especificidad del 88'5% para el diagnóstico de IIA.

b) Curva ROC para la glucosa (figura 19).

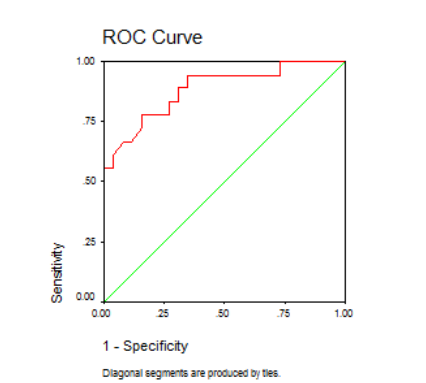


Figura 19.- Curva ROC para glucosa.

Para la determinación de glucosa, el mejor valor como punto de corte es 22'5, con una sensibilidad del 77'8% y una especificidad del 94'6% para el diagnóstico de IIA.

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): GLUCOSA

Positive if Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
.00	.000	.000
1.50	.167	.000
4.00	.333	.000
7.00	.389	.000
8.50	.444	.000
10.00	.556	.000
13.50	.556	.038
16.50	.611	.038
18.00	.667	.077
19.50	.667	.115
20.50	.722	.154
22.50	.778	.192
24.50	.778	.269
25.50	.778	.269
26.50	.833	.308
28.00	.833	.308
30.00	.889	.346
31.50	.889	.346
32.50	.944	.385
33.50	.944	.423
34.50	.944	.462
35.50	.944	.538
38.00	.944	.577
40.50	.944	.615
42.00	.944	.654
43.50	.944	.692
45.00	.944	.731
46.50	.944	.731
47.50	1.000	.769
50.00	1.000	.808
53.50	1.000	.846
56.00	1.000	.885
73.50	1.000	.923
95.00	1.000	.962
107.50	1.000	1.000
116.00	1.000	1.000

The test result variable(s): GLUCOSA has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group.

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

5.- Resultados perinatales.

5.1.- Vía del parto.

En total se atendió el parto de 51 neonatos vivos. Se realizaron 26 cesáreas y se atendieron 18 partos eutócicos. El porcentaje de cesáreas fue superior en los casos de corioamnionitis histológica (Figura 20) de forma estadísticamente significativa ($p = 0.01$). En los casos de corioamnionitis la tasa de cesáreas ascendió hasta el 77'3%, situándose en el 41'4% en los casos en que no hubo infección.

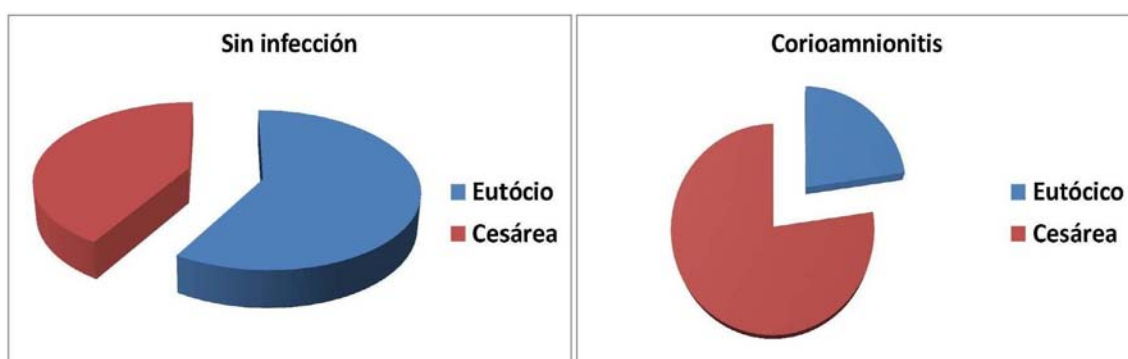


Figura 20.- Vía del parto en función de la presencia o no de corioamnionitis.

5.2.- Valor del pH en arteria umbilical al nacimiento. Sexo de los neonatos.

El pH en arteria umbilical fue posible recogerlo en 40 de los 51 neonatos. El valor máximo de fue 7'43 y el valor mínimo 7'06, situándose el valor medio en 7'31 con una desviación típica de 0'07. Al relacionar el valor del pH en arteria umbilical al nacimiento con la presencia o ausencia de corioamnionitis no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Tampoco se encontraron diferencias al examinar los valores de pH en función de la presencia o ausencia de funisitis en el cordón umbilical.

El 54'9% de los neonatos fue varón, y el 45'1% fue mujer. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el sexo de los neonatos con la presencia o no de corioamnionitis, así como con el desarrollo o no de funisitis en el cordón umbilical.

5.3.- Edad gestacional al parto y peso al nacimiento.

De los 51 neonatos:

- 16 extremadamente pretérmino (< 28 semanas): 100% corioamnionitis.
- 12 muy pretérmino (entre las 28 y las 32 semanas): 50% corioamnionitis.
- 7 moderadamente pretérmino (entre las 32 y las 34 semanas): 28'5% corioamnionitis.
- 7 Pretérmino tardío (entre las 34 y las 37 semanas): 0% corioamnionitis.
- 8 a término (> 37 semanas): 0% corioamnionitis.

La edad gestacional media en el parto fue menor en el grupo con corioamnionitis de forma estadísticamente significativa ($p < 0.000001$). No obstante no se encontraron diferencias en función del desarrollo o no de funisitis en el cordón umbilical. La edad gestacional media al parto en el caso de la presencia de corioamnionitis fue de 27'1 semanas, en cambio en el grupo sin infección la edad gestacional media al parto ascendió hasta 34'9 semanas (Figura 21).

Del mismo modo, el peso al nacimiento fue menor de forma estadísticamente significativa ($p < 0.00001$) en el grupo con corioamnionitis. La media de peso al nacimiento en el grupo sin infección fue de 2387,72 g., mientras que en el grupo afecto de corioamnionitis fue de 1009,95 g. (Figura 21).

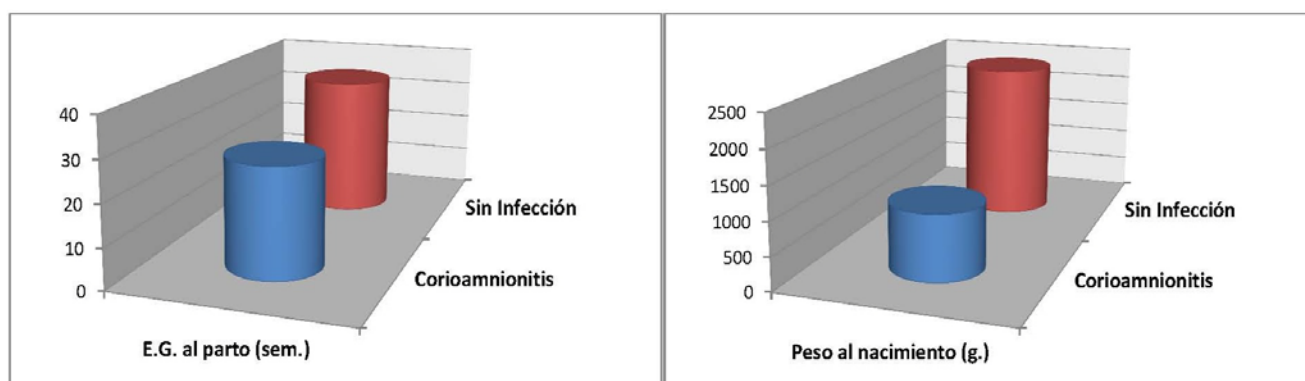


Figura 21.- Media de peso al nacimiento y de semana gestacional al parto en función de la presencia o ausencia de corioamnionitis. g = gramos. sem = semanas. E.G.= edad gestacional.

5.4.- Morbi-mortalidad neonatal.

De entre los 51 neonatos se contabilizan dos muertes en el periodo perinatal:

- El primer caso corresponde a una gestación de 24 + 6 semanas. Tras un periodo expectante de 6 días en un caso de RPMP diagnosticado mediante amniocentesis diagnóstica de corioamnionitis subclínica, se realizó una cesárea urgente por sospecha de desprendimiento prematuro de placenta. Falleció por parada cardiorrespiratoria en el contexto de patología pulmonar con 16 días de vida.
- El segundo caso se trata de una gestación de 24 + 1 semanas. La paciente ingresó con diagnóstico de APP + bolsa prolapsada en vagina, siendo imposible frenar el parto el cual se produjo en semana 24 + 3. A los 8 días de vida se produjo la muerte del neonato por paro cardiorespiratorio en el contexto de una enterocolitis necrotizante y una hemorragia cerebral masiva.

a) Enterocolitis necrotizante.

Hubo 4 (7'8%) casos de enterocolitis necrotizante, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en función de la presencia o no de corioamnionitis.

b) Daño neurológico.

El 19'6% (10/51) de los neonatos desarrolló HIV (Figura 22). De estos, el 40% (4/10) desarrolló HIV tipo I-II, y el 60% (6/10) desarrolló HIV tipo III-IV. La presencia de corioamnionitis se relacionó de forma estadísticamente significativa con una mayor frecuencia de HIV ($p = 0.01$).

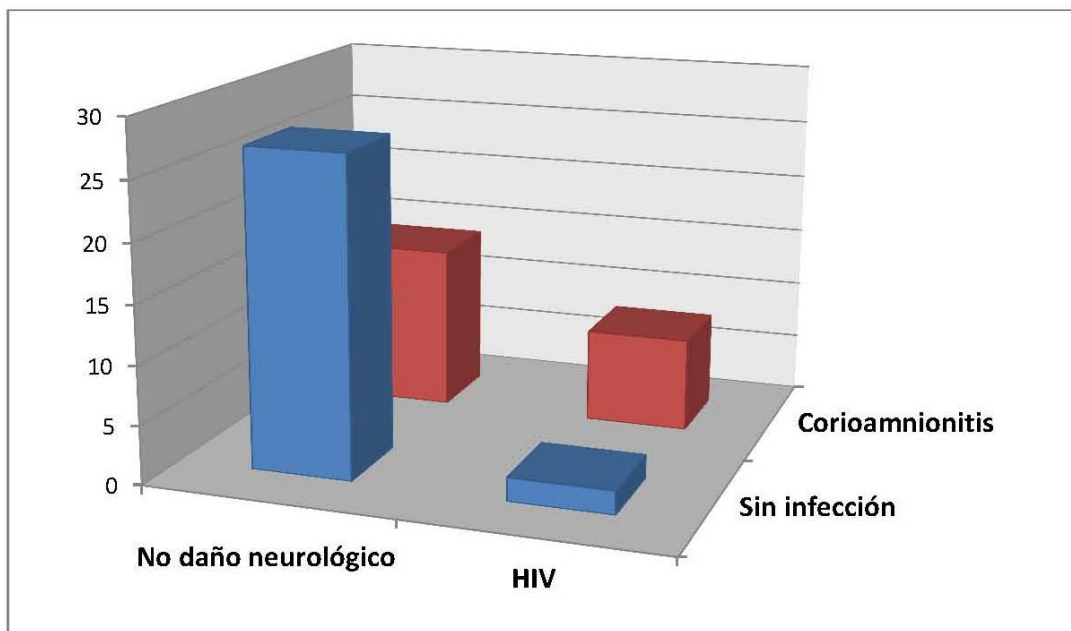


Figura 22.- Distribución de los casos de hemorragia intraventricular (HIV) en función de la presencia de corioamnionitis.

Esta asociación fue aun más fuerte cuando se relacionó el desarrollo de HIV con la presencia de funisitis en el cordón umbilical ($p = 0.003$); ya que el 54.5% de los neonatos que presentaban funisitis en el cordón umbilical, desarrolló HIV (Figura 23). No obstante al realizar el análisis multivariante introduciendo la edad gestacional, esta resultó ser una variable de mayor peso.

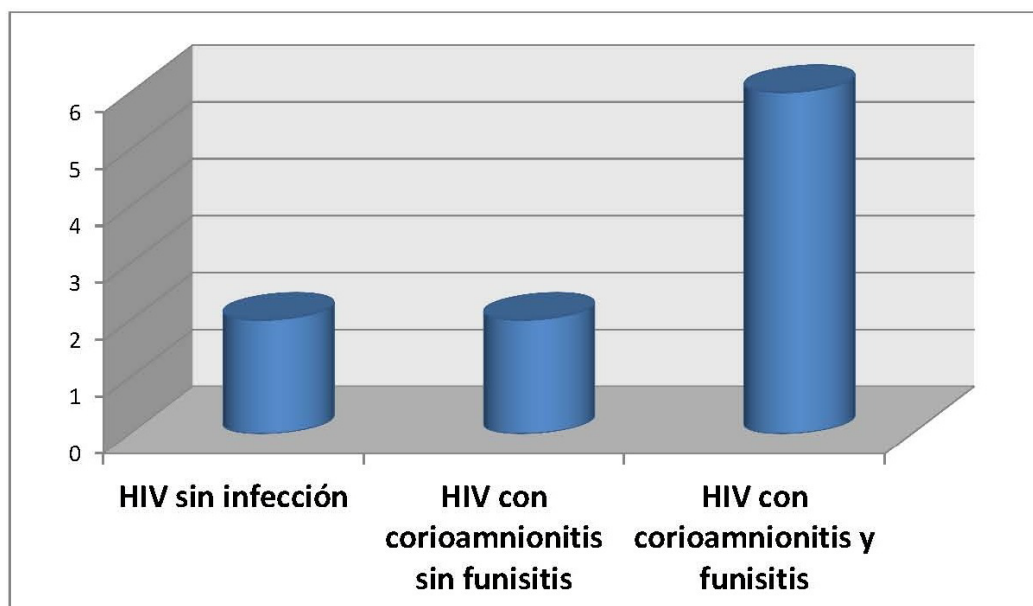


Figura 23.- Distribución de los casos de HIV (hemorragia intraventricular) en función de la histología de la placenta y del cordón umbilical. El 60% (6/10) de los casos de HIV presentó funisitis en el cordón umbilical.

c) Oxigenoterapia de los neonatos. Displasia broncopulmonar.

El 46'9% (29/51) en alguna de sus formas. De estos 29 pacientes, la forma de administración de oxigenoterapia fue la siguiente:

- Gafas nasales: 2% (1/51).
- CPAP (presión positiva continua en la vía aérea): 21'6% (11/51).
- Intubación: 33'3% (17/51).

Entre los neonatos que requirieron oxigenoterapia hubo diferencias estadísticamente significativas en función del desarrollo o no de corioamnionitis, de tal forma que los afectos de corioamnionitis presentaron mayores tasas de oxigenoterapia ($p < 0.000001$). El 72'4% (21/29) de los pacientes sin corioamnionitis no requirió oxigenoterapia, en contra del 95'5% (21/22) de los pacientes con corioamnionitis, que si la requirió. Estas diferencias también fueron estadísticamente significativas al subdividir el grupo de corioamnionitis en base al desarrollo o no de funisitis en el cordón umbilical ($p < 0.000001$) (Figura 24).

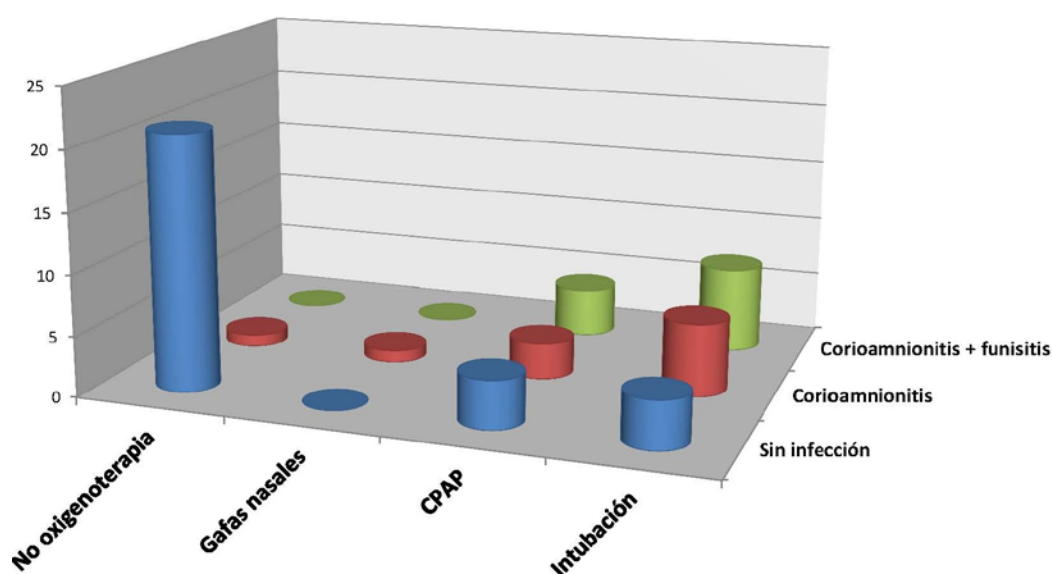


Figura 24.- Distribución de los neonatos que requirieron oxigenoterapia, y la forma de la administración, en función de la histología de la placenta y el cordón umbilical. CPAP = presión positiva continua en la vía aérea.

Se encontraron también diferencias estadísticamente significativas en el número de días que requirieron oxigenoterapia los neonatos ($p = 0.043$) en

función de la presencia o no de corioamnionitis, no obstante no se encontraron diferencias en función de la presencia o no de funisitis (Figura 25). En el caso de los neonatos con corioamnionitis la media de días de oxigenoterapia fue de 44'8 días, la cual ascendía hasta 47'82 días en el caso de que además existiera funisitis en el cordón umbilical. La media de días de oxigenoterapia en los casos sin infección fue de 21'5 días.

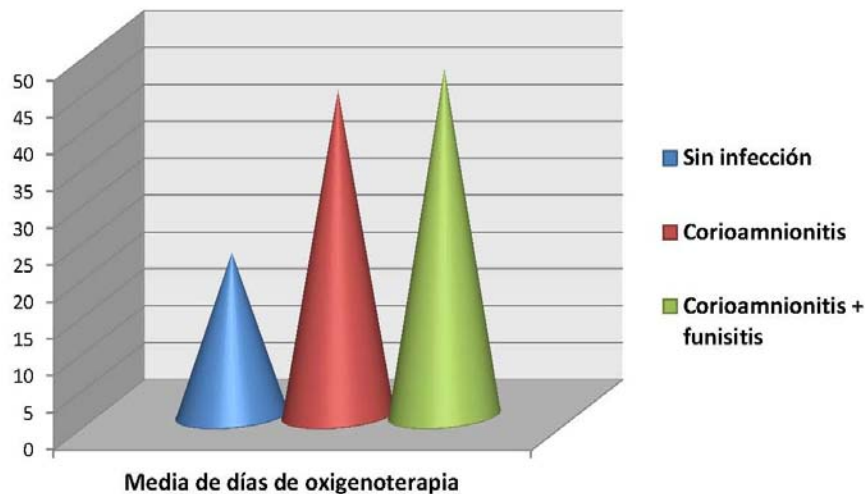


Figura 25.- Días de oxigenoterapia que requirieron los neonatos según la presencia o ausencia de corioamnionitis y funisitis.

Se desarrolló DBP en el 13'7% (7/51) de los neonatos. Todos los casos de DBP se produjeron en pacientes con corioamnionitis, estableciéndose una asociación estadísticamente significativa ($p = 0.001$). Esta asociación estadística se mantuvo al separar los casos de corioamnionitis en función de la presencia o no de funisitis en el cordón umbilical ($p = 0.004$), 3 (42'9%) se produjeron en ausencia de funisitis, y 4 (51'1%) de los casos en presencia de funisitis (Figura 26).

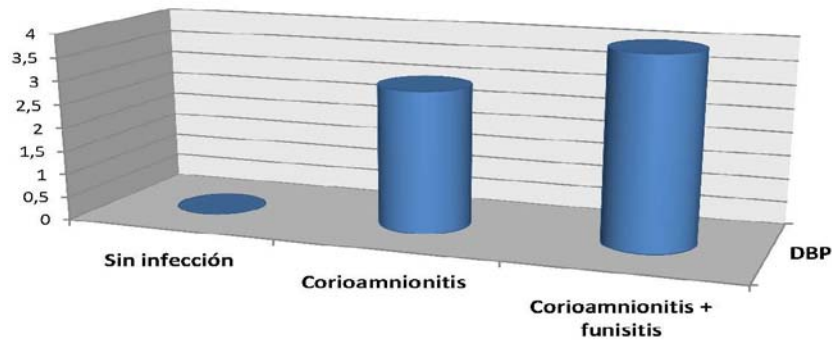


Figura 26.- Distribución de los casos de DBP en función de la histología de la placenta y del cordón umbilical. DBP = displasia broncopulmonar.

Al aplicar el análisis multivariante sobre la necesidad, la forma, y el número de días de oxigenoterapia; se encontró que la prematuridad fue el factor fundamental, por encima de la infección. Lo mismo ocurrió con el desarrollo de displasia broncopulmonar.

d) Morbilidad infecciosa del neonato.

El 19'6% (10/51) de los neonatos presentó infección al nacimiento. El 50% (5/10) presentaron una sepsis clínica, y la otra mitad parámetros analíticos de infección. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el desarrollo de infección al nacimiento y la presencia de corioamnionitis histológica ($p = 0.001$), presentando infección al nacimiento el 40'9% (9/22) de los casos de corioamnionitis y el 3'4% (1/29) de los casos sin corioamnionitis. El porcentaje de infección fue todavía mayor en los casos de funisitis (6 de los 10 pacientes con infección presentaban funisitis) donde se llega a un 54.5% de los casos con infección ($p < 0.0001$) (Figura 27).

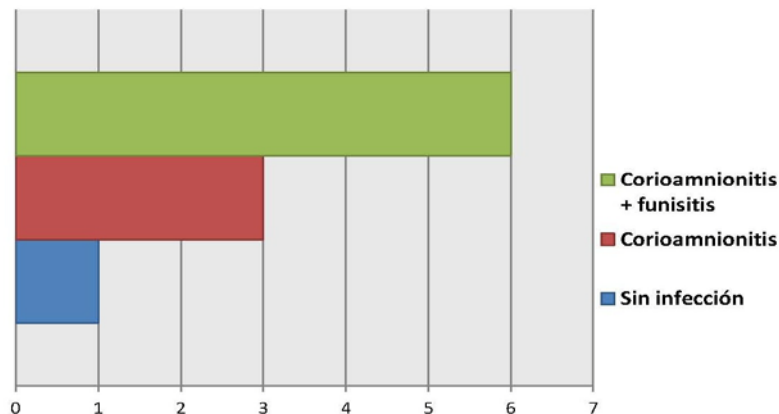


Figura 27.- Casos de infección al nacimiento en función de la histología de la placenta y del cordón umbilical.

Durante el ingreso hospitalario, el 33'3% (17/51) de los neonatos desarrolló una infección nosocomial. El origen de estas infecciones fue el siguiente:

- Intestinal: 7'8% (4/51).
- Cateter: 2% (1/51).
- Pulmonar: 15'7% (8/51).
- Indeterminada: 7'8% (4/51).

La inmensa mayoría con un 94'1% (16/17) de los pacientes que desarrolló una sepsis nosocomial se encontraba dentro del grupo de corioamnionitis histológica, lo cual presentó una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.00001$). En cambio, en esta variable no había tanta diferencia entre que existiera o no funisitis, ya que de los 16 casos con corioamnionitis y sepsis nosocomial, 9 no presentaban funisitis y 7 si la presentaron (Figura 28).

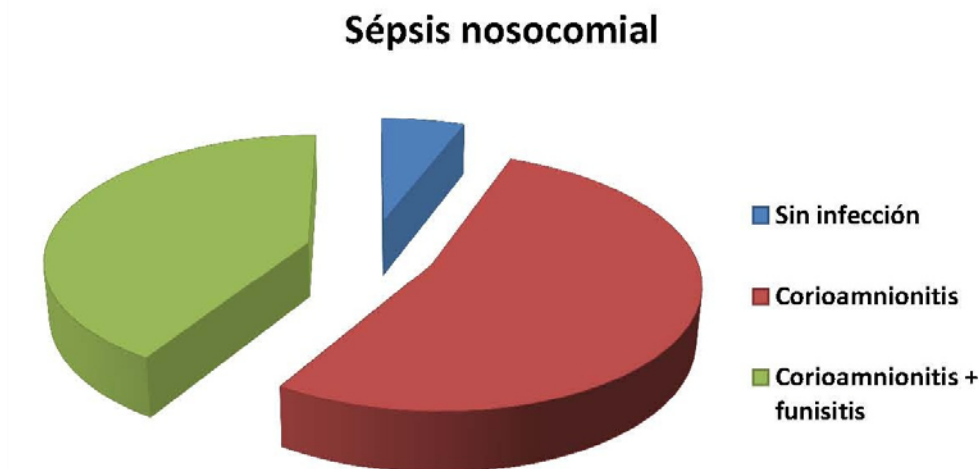


Figura 28.- Distribución de los casos de sépsis nosocomial en función de la histología de la placenta y del cordón umbilical.

De nuevo en el análisis multivariante tanto la sepsis nosocomial como la infección al nacimiento tuvieron mayor asociación estadística con la prematuridad que con la corioamnionitis.

IV DISCUSIÓN

1.- Población de estudio.

De los 6 casos en los que no fue posible realizar la prueba, cabe destacar que se encontró corioamnionitis en el 50% (3/6):

- 2 casos de oligoamnios en los que no se pudo obtener muestra de LA: la presencia de oligoamnios se considera por muchos como la amniocentesis más difícil y peligrosa. En estos casos, sin embargo, la amniocentesis puede ofrecer el mayor beneficio; ya que las tasas de IIA son más altas en los casos de oligohidramnios^{78, 79, 80, 81}. De hecho en estos dos casos se trató de una corioamnionitis dando lugar a un mal resultado perinatal.
- 1 caso (2'15%): barrera idiomática importante en el caso de una paciente de Sri Lanka que presentaba la bolsa prolapsada en vagina en semana 26. Como el parto se produjo 2 semanas después del ingreso es razonable pensar que la IIA se desarrolló a lo largo de la hospitalización al estar las membranas en contacto con la flora vaginal.

La alta incidencia de IIA en las pacientes en las que se realizó la amniocentesis, confirma que el grupo de riesgo seleccionado (tabla 5) es tributario de IIA en un alto porcentaje de los casos. Al evaluar la incidencia de IIA en función de la indicación, encontramos los siguientes datos (Figura 29):

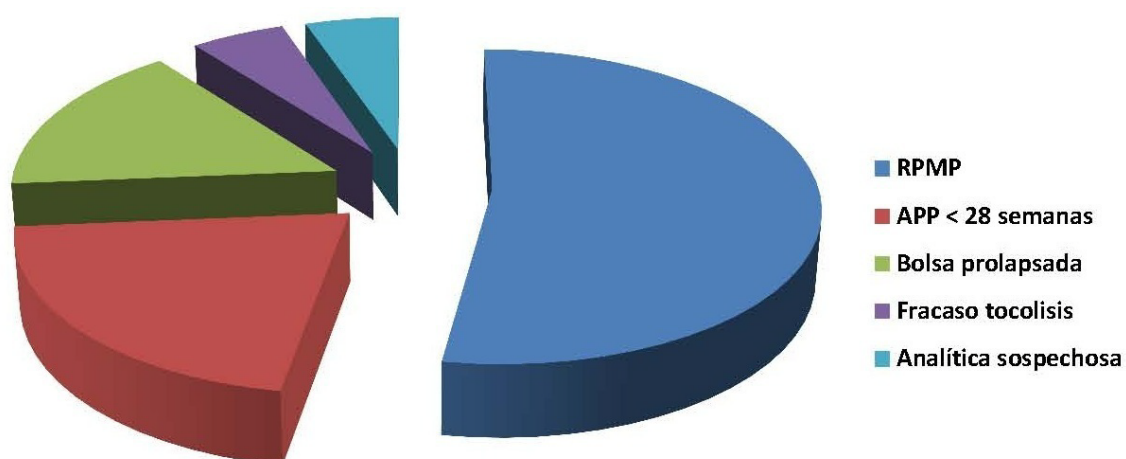


Figura 29.- Casos de infección intraamniótica en función de la indicación de la amniocentesis. RPMP = rotura prematura de membranas, APP = amenaza de parto pretérmino.

- RPMP < 32 semanas de gestación: se encontró IIA en 10 (45'5%) de las 22 pacientes estudiadas con esta indicación. Estos datos están en consonancia con las cifras existentes en la literatura internacional^{35, 94, 95}, que cifran la presencia de IIA en un 40% de las pacientes con RPMP.
- APP < 28 semanas de gestación: se encontró IIA en 4 (22'5%) de las 18 pacientes estudiadas con esta indicación. Estos datos están en consonancia con las cifras existentes en la literatura internacional³⁵, que cifran la presencia de IIA en un 30% de las pacientes con APP < de las 28 semanas de gestación. La APP < 28 semanas de gestación junto con la RPMP < 32 semanas conforman el grueso de la casuística de este estudio sumando el 76'1% de los casos (35/46).
- Metrorragia del 2º - 3º trimestre de causa desconocida: los dos casos estudiados no mostraron IIA. Es probable que sea necesario recoger más casos con esta indicación para decidir si merece la pena el estudio en estas pacientes. Gómez et al.⁸⁸ estudian 114 pacientes bajo esta indicación, detectando IIA en 16 (14%) de ellas.
- Bolsa prolapsada en vagina: en los 3 casos en los que se realizó la amniocentesis con esta indicación, se encontró infección (100%). A pesar del escaso número de casos con esta indicación, se intuye que la frecuencia de IIA en casos de bolsa prolapsada en vagina es muy alta. De hecho, en un estudio realizado sobre 52 pacientes⁸⁹, se demuestra que la inflamación intraamniótica está presente en un alto porcentaje (80%) de los casos. Varios autores han dejado constancia del elevado número de casos en los que existe IIA en situaciones en las que la bolsa aparece prolapsada en la vagina^{97, 98, 99}. No obstante, es objeto de discusión conocer cual es el proceso que ocurre en primer lugar, bien la IIA produce borramiento y dilatación cervical, o bien es la insuficiencia cervical la que propicia la IIA al poner en contacto las membranas amnióticas con el ambiente vaginal. En cualquier caso, la presencia de insuficiencia cervical es un factor de riesgo para un mal resultado perinatal^{97, 99, 100}.

- Fracaso de tocolisis: de los 5 casos estudiados bajo esta indicación, se encontró IIA en 1 de ellos (20%). La refractariedad al tratamiento tocolítico ha sido considerada por diversos autores como un signo más de sospecha de corioamnionitis^{101, 102}.
- Analítica sospechosa: el único caso en el que se realizó la prueba corresponde a una gestante ingresada por RPMP, en la que tras 25 días de ingreso se detectó leucocitosis y aumento de los reactantes de fase aguda en un control analítico de rutina. Se trató de un caso de IIA. En el caso de la RPMP, cuando se descarta IIA mediante amniocentesis, no está claro, dentro del manejo expectante de la paciente, y hasta que se alcanza la edad gestacional subsidiaria de una conducta activa (32 semanas según el protocolo del Hospital Universitario La Paz), cuando se debe repetir la prueba, o si se debe o no se debe repetir. Con el propósito de alcanzar un diagnóstico precoz de la corioamnionitis subclínica, Hanley y Vitzileos¹⁰³ proponen la utilización del perfil biofísico de forma periódica para la identificación de aquellos casos en los que se está desarrollando una corioamnionitis subclínica. Sin embargo, Miller¹⁰⁴ se posiciona en contra del uso del perfil biofísico como marcador precoz de corioamnionitis subclínica. Entre los marcadores séricos utilizados en la práctica clínica habitual, la proteína C reactiva tiene una sensibilidad comprendida entre el 56% y el 86% y una especificidad que oscila entre el 55% y el 82% para el diagnóstico de corioamnionitis. El recuento de glóbulos blancos, que también se emplea habitualmente, tiene un pobre valor predictivo positivo de corioamnionitis, a pesar de una alta especificidad cuando el umbral es de 16000 / mm³. Entre las citoquinas pro-inflamatorias, la interleucina 6 (IL-6) ha sido el más estudiado, siendo su valor predictivo positivo para la infección ovular o neonatal mayor, pero su utilidad clínica está limitada por la falta de medios de rutina para su determinación¹⁰⁵. Diversos autores han señalado que la medición de los valores de procalcitonina en plasma materno podría ser un buen marcador del desarrollo de corioamnionitis subclínica^{106, 107}; no obstante, otros autores no la consideran de utilidad¹⁰⁵. La escasez de estudios publicados a este respecto no permite establecer un criterio definitivo.

Merece un comentario a parte el hecho de que de las 8 amniocentesis realizadas en gestaciones gemelares, sólo 1 (12'5%) fue por RPMP, jugando por tanto un papel mucho más secundario que en el caso de las gestaciones únicas, donde representó el grupo más numeroso de pacientes, el 55'2% (21/38). Por el contrario, el fracaso de tocolisis fue el segundo grupo más numeroso en el caso de las gestaciones gemelares representando el 25% (2/8), mientras que en gestaciones únicas sólo representó el 7'8% (3/38). La indicación de amniocentesis por APP < 28 semanas de gestación fue la más frecuente en gestaciones gemelares, y la segunda en frecuencia en caso de las gestaciones únicas (Figura 30).

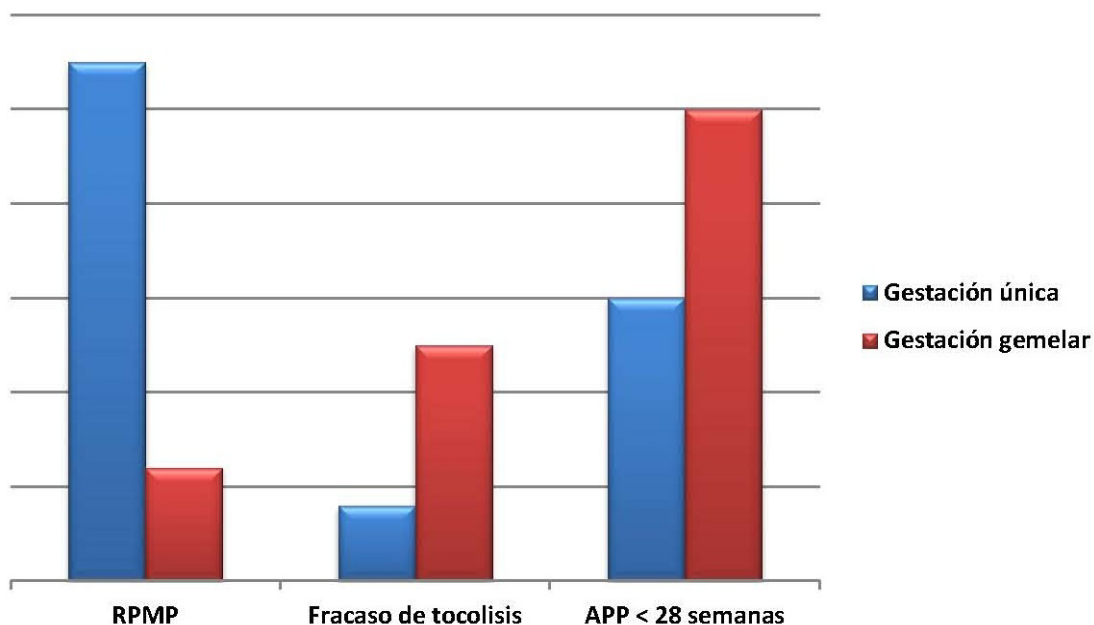


Figura 30.- Comparativa entre las indicaciones de amniocentesis diagnóstica en gestaciones únicas y gemelares

Al observar las semanas de gestación se encuentra que la mitad de las pacientes (23/46) se encuentran entre las semanas 24 y 26 de gestación (Figura 31). Esto encaja con el hecho de que la frecuencia de IIA es mayor en los partos pretérmino. En una revisión, la incidencia de la IIA en las mujeres con bolsa rota por debajo de las 27 semanas de gestación, entre las 28 y las 36 semanas de gestación, y a término; fue de 41%, 15%, y 2% por ciento, respectivamente¹⁰⁸.

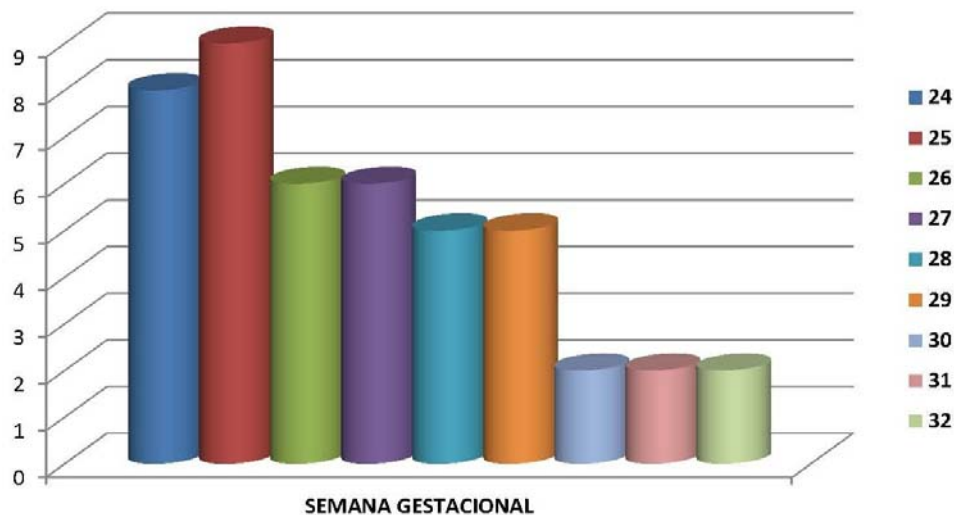


Figura 31.- Número de pacientes en función de la semana gestacional a las que se les realizó una amniocentesis diagnóstica.

Al evaluar los resultados en cuanto a paridad y edad de las gestantes, encontramos que la prueba se indicó en pacientes ≥ 34 años en 50% de los casos, y que el porcentaje de primíparas fue casi el doble que el de múltiparas. Esta tendencia se repite al analizar la incidencia de IIA en función de la paridad y la edad de las gestantes (Figura 32).

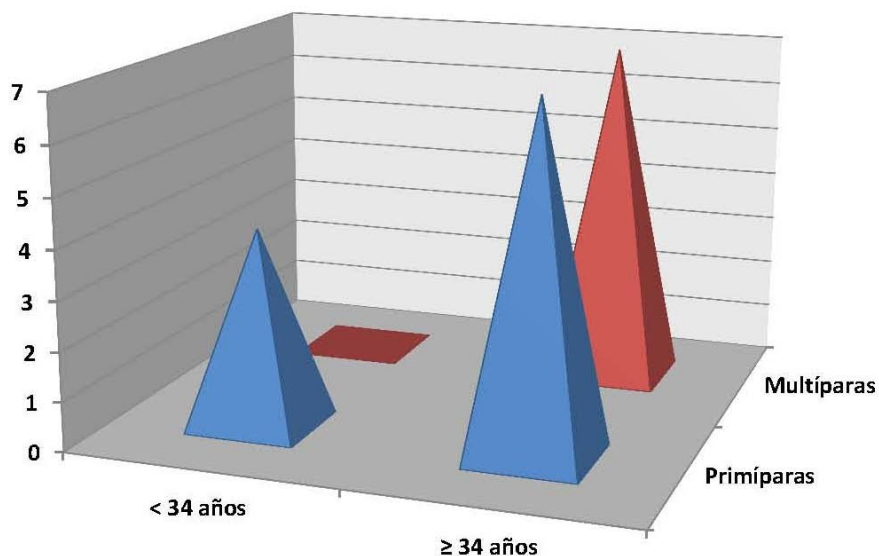


Figura 32.- Distribución en función de edad y paridad, de los casos de infección intraamniótica.

Con respecto a la administración de antibióticos previo a la realización de la prueba, es muy posible que haya reducido en gran medida el número de cultivos positivos en LA, ya que más de la mitad de las pacientes recibieron antibioterapia intravenosa previa a la obtención del LA. Además, la

antibioterapia intravenosa intensa a la madre se ha demostrado que llega a alcanzar niveles elevados en sangre fetal¹⁰⁹, lo cual podría disminuir el volumen del inóculo bacteriano en el LA, y por tanto restar sensibilidad a las técnicas de detección bacteriana mediante PCR. Conviene destacar que la administración de antibióticos intravenosos a la gestante con RPMP no erradica la IIA⁹³. Ovalle et al.¹¹⁰ demuestra que la administración de antibióticos intravenosos en casos de IIA si consigue disminuir la tasa de corioamnionitis histológica, no así la tasa de funisitis. A pesar de que se ha demostrado la curación de IIA⁹⁰ mediante la administración de antibióticos, probablemente esto es sólo posible en casos de estadios muy precoces de corioamnionitis producidas por gérmenes poco patógenos.

2.- Complicaciones en la realización de la prueba.

La información existente en la literatura habla sobre la amniocentesis en el 2º - 3º trimestre como un procedimiento seguro^{44, 111, 112, 113}. Hodor et al.¹¹⁴ realizan un estudio sobre 167 pacientes que son sometidas a amniocentesis en el tercer trimestre, concluyendo que la amniocentesis en el tercer trimestre no se asocia con un incremento de la finalización urgente de la gestación, desprendimiento prematuro de placenta normoinsera, RPMP, Apgar a los 5 minutos < 7, o muerte perinatal dentro de las 48 horas tras el procedimiento.

No obstante, la mayoría de los estudios que hablan sobre la seguridad de la amniocentesis en el tercer trimestre de la gestación, utilizan pacientes a los que la prueba se realiza bajo indicación diferente a la de la sospecha de IIA. La presencia de oligoamnios se considera por muchos como la amniocentesis más difícil y peligrosa, y según la casuística presentada en este trabajo, la RPMP representó el 45'7% de todos los casos. De los 4 casos en los que se produjeron complicaciones cabe destacar lo siguiente:

- En los dos casos en los que se produjo la obtención de LA mediante punción transplacentaria, la complicación consistió en que la contaminación del LA dio lugar a unos resultados no valorables en cuanto a la determinación de glucosa, ácido láctico y leucocitos. En un estudio llevado a cabo sobre 357 embarazadas en las que se realizó una amniocentesis diagnóstica de infección, se utilizó una fórmula de corrección para el recuento de leucocitos en aquellas muestras de LA contaminadas con sangre materna¹¹⁵. Los autores concluyen que en el marco de una muestra de LA contaminado con 1.000 eritrocitos/mm³ o más, el recuento de leucocitos es un indicador menos preciso de inflamación e IIA; y que en estas muestras, la aplicación de una fórmula de corrección del recuento de leucocitos aumenta el rendimiento diagnóstico de la inflamación y la infección.
- En el caso en el que se produjo la lesión del cordón umbilical la complicación principal fue, al igual que en los casos anteriores, la difícil interpretación de los resultados. El sangrado fue escaso y sin repercusión fetal ni neonatal.
- La única complicación grave no se debió a un accidente durante la prueba, sino a los efectos derivados de la irritación uterina a consecuencia de la amniocentesis, generando contracciones. La

presencia de una anemia fetal crónica no diagnosticada determinó la aparición de un registro cardiotocográfico patológico (Imagen 7) obligando a la finalización de la gestación. Tras el nacimiento se diagnosticó mediante el test de Kleihauer-Betke la presencia de una hemorragia fetomaterna. La ausencia de otras causas de anemia fetal, junto con el perfil crónico de la anemia encontrado en el hemograma del neonato, llevaron al diagnóstico de una hemorragia fetomaterna subaguda o crónica, la cual se puso de manifiesto con un patrón cardiotocográfico patológico al aparecer las contracciones. La incidencia de la hemorragia fetomaterna es muy alta, pero generalmente en volúmenes prácticamente insignificantes, y va aumentando a medida que avanza la gestación, teniendo su máxima expresión durante el parto¹¹⁶. El síntoma típico, pero no específico, que se asocia a la hemorragia fetomaterna es simplemente, una disminución en la percepción de los movimientos fetales por parte de la madre. Un patrón sinusoidal en el registro cardiotocográfico se considera muy sugestivo de anemia fetal¹¹⁷. En cualquier caso el mejor método para el diagnóstico de la presencia de anemia fetal es la medición del pico sistólico en la arteria cerebral media¹¹⁸.

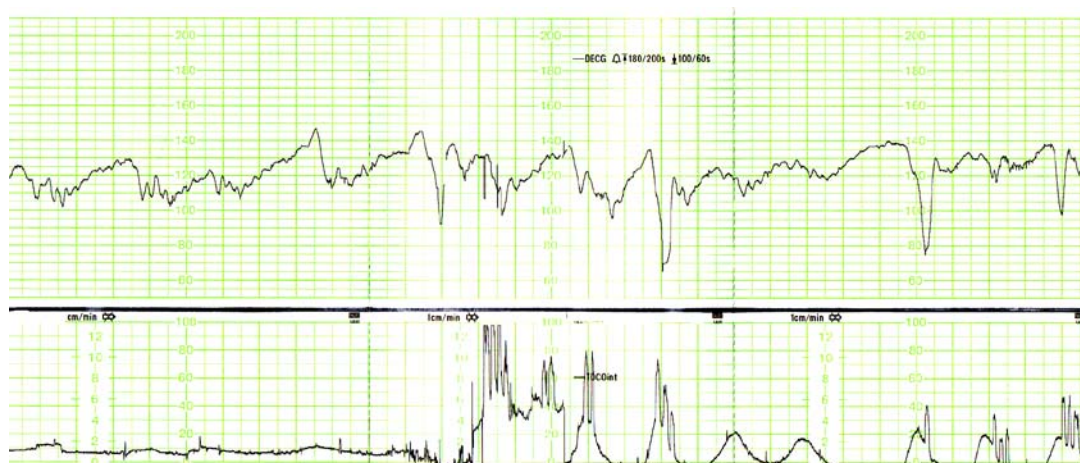


Imagen 7.- Registro cardiotocográfico post-amniocentesis en el que se observa dinámica uterina regular y un patrón fetal patológico con marcada disminución de la variabilidad y desaceleraciones variables atípicas.

3.- Análisis anatomopatológico de las placentas y evolución clínica de las pacientes (Gold Standard).

Al comparar el agente etiológico con el tipo de lesión se pone de manifiesto que determinados gérmenes tienen un comportamiento más agresivo que otros, como es el caso de *Streptococcus* spp (Imagen 8 y 9). Diversos autores han reflejado la diversidad en la severidad de la IIA en función del germen causal, otorgando mayor agresividad a bacterias como *Streptococcus* spp o *Fusobacterium nucleatum*¹¹⁹ (imagen 10); y un carácter menos agresivos a gérmenes como el *Ureaplasma urealyticum*¹¹⁹. No obstante, se ha comunicado una mayor tasa de inflamación intraamniótica cuando la IIA está producida por micoplasmas genitales⁹⁵.

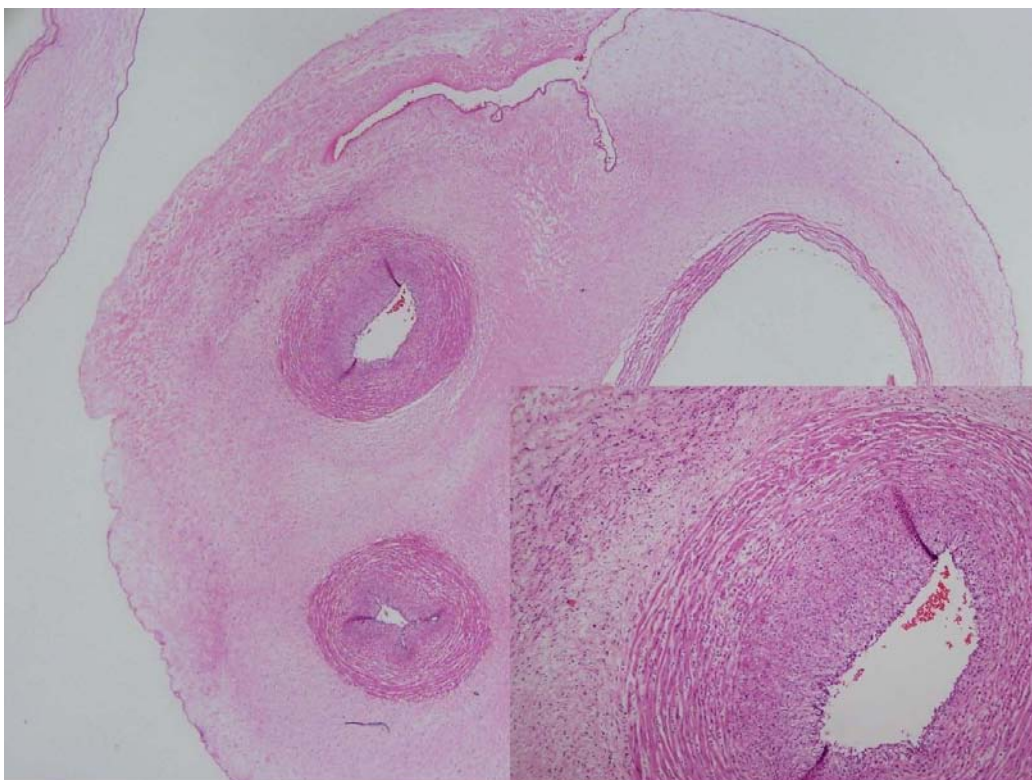


Imagen 8.- Corte de cordón umbilical en el que se observa flebitis y arteritis aguda con extensión a la gelatina.

A pesar de la ya comentada asociación entre la presencia de funisitis histológica y el desarrollo de parálisis cerebral en el neonato^{62, 63}, en la serie presentada no se observan diferencias en la incidencia y el grado de HIV, en función de la presencia o no de funisitis; no obstante otros autores si encuentran esta relación¹²⁰.

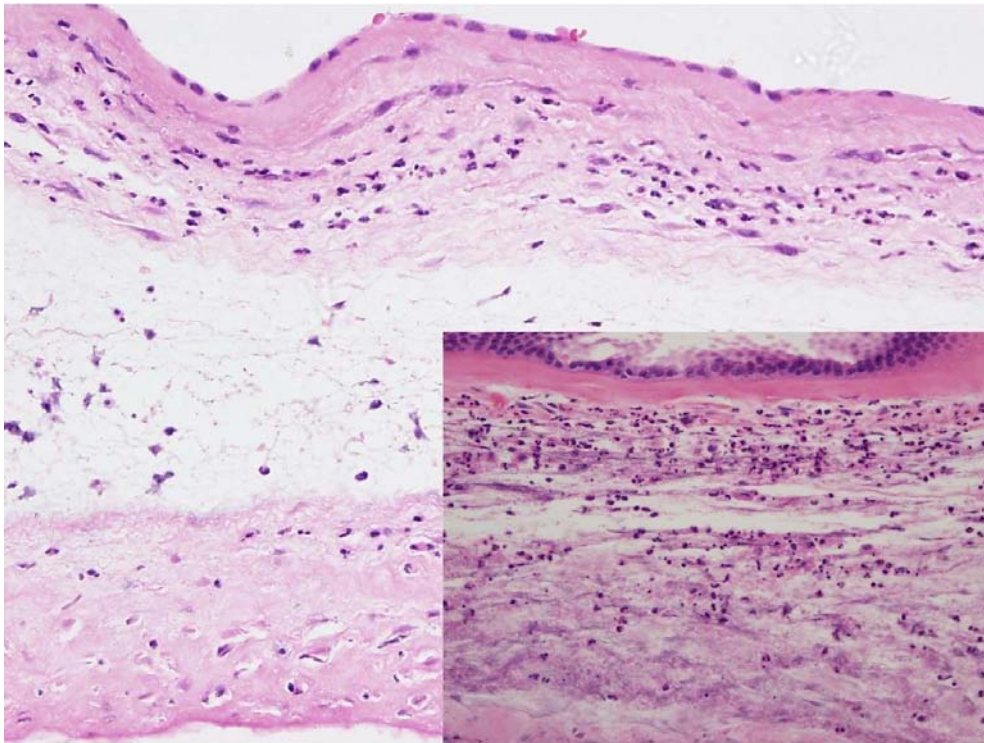


Imagen 9.- Corioamnionitis aguda con focos necrotizantes causada por *Streptococo anginosus*

Del mismo modo, la asociación entre DBP y corioamnionitis^{35, 55, 56, 57} se pone de manifiesto al examinar la lesión en el cordón umbilical. A pesar de no encontrar datos estadísticamente significativos, si se observó una tendencia al alza en los días de oxigenoterapia cuando la lesión en el cordón umbilical estuvo presente (Figura 33).

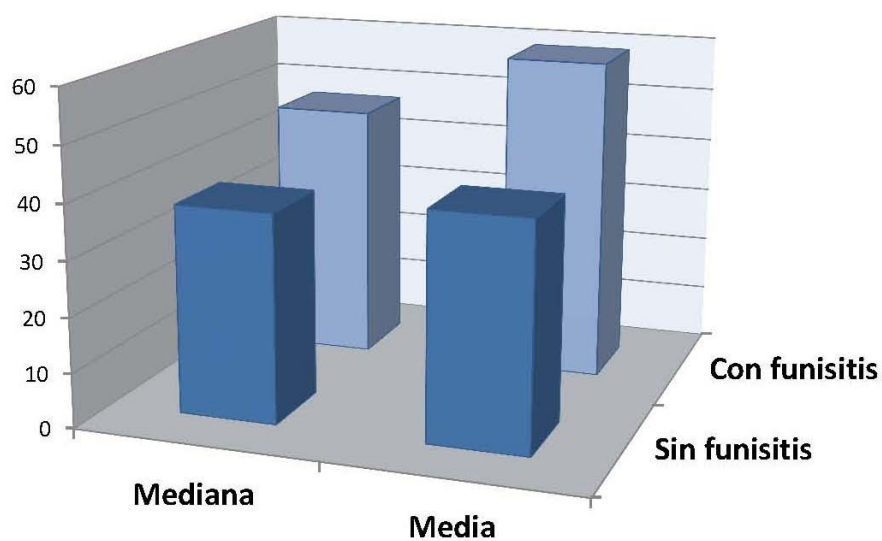


Figura 33.- Días de oxigenoterapia que requirieron los neonatos en función de la presencia o no de funisitis en el cordón umbilical.

Recientemente se han publicado datos que afirman que la corioamnionitis histológica reduce el riesgo de desarrollo de sepsis neonatal tardía. Parece ser que la corioamnionitis tiene efectos significativos en la función inmune y por lo tanto, indirectamente, modula el riesgo de sepsis neonatal tardía por gérmenes nosocomiales. Los mecanismos por los que la corioamnionitis histológica puede dar lugar a la maduración del sistema inmune fetal y neonatal son desconocidos, pero puede implicar la transferencia de ligandos bacterianos y / o mediadores inmunes maternos a través de la placenta¹²¹. No obstante en este estudio la presencia de corioamnionitis histológica se relaciona fuertemente con el desarrollo de sepsis neonatal tardía, aunque si se observo que en los casos de funisitis (mayor progresión de la corioamnionitis histológica) hubo menos casos de sepsis neonatal tardía, que en los casos de corioamnionitis sin funisitis (menor progresión de la corioamnionitis histológica).

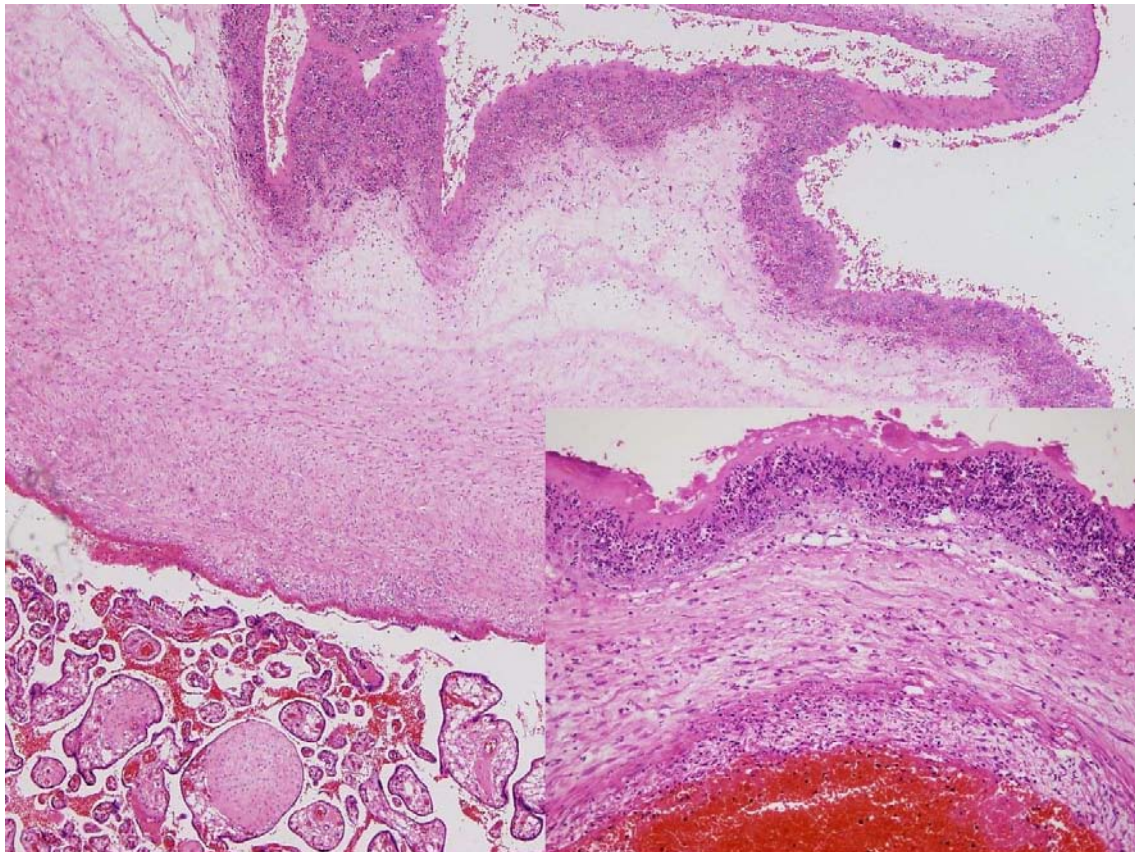


Imagen 10.- Corioamnionitis aguda necrotizante causada por *Fusobacterium nucleatum*.

4.- Resultados de la amniocentesis.

Al evaluar estadísticamente la validez de la amniocentesis diagnóstica para la detección de IIA en el grupo de riesgo seleccionado, encontramos que la prueba presenta unas altas tasas de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, y valor predictivo negativo. Además la exactitud de la prueba y el Índice J de Youden son muy elevados.

Uno de los principales obstáculos en el diagnóstico de la IIA es que muchos de los gérmenes responsables no son cultivables¹²². La aplicación de técnicas de PCR ha supuesto una revolución en la detección de gérmenes difícilmente cultivables o no cultivables¹²³, permitiendo en el presente estudio alcanzar unas altas tasas de detección de infección en el análisis del LA.

4.1- Resultados del laboratorio de microbiología.

a) Cultivo de aerobios y anaerobios. Tinción de Gram.

Los métodos de cultivo puro proporcionan un enfoque de gran alcance para el análisis microbiano basado en características morfológicas, bioquímicas, y de crecimiento, entre otros. Sin embargo, es sabido desde hace tiempo a partir de estudios de comunidades microbianas complejas que hasta el 99% o más de las especies microbianas que son visualizadas por microscopía son incultivables, un fenómeno llamado "la gran anomalía en el recuento de la placa". Debido a este sesgo sistemático de los métodos de cultivo, se deduce que las especies más frecuentemente recuperadas en un cultivo puro no pueden ser numéricamente dominantes ni tener la mayor significación clínica entre los microbios presentes en un ambiente muestreado¹²⁴.

Con respecto a la tinción de Gram, la experiencia reportada en esta serie muestra que en los 3 casos en los que se produjo IIA por *Streptococcus* Spp estos fueron identificados mediante la tinción. Sin embargo, en los casos de infección por otros gérmenes no fue posible la identificación mediante este método. A pesar de que los micoplasmas genitales son resistentes a la tinción, hay que tener en cuenta que *Fusobacterium nucleatum* si es posible

visualizarlo mediante este método, y que a pesar de ser responsable de 2 casos de IIA, no fue identificado en la tinción de Gram (Imagen 11).

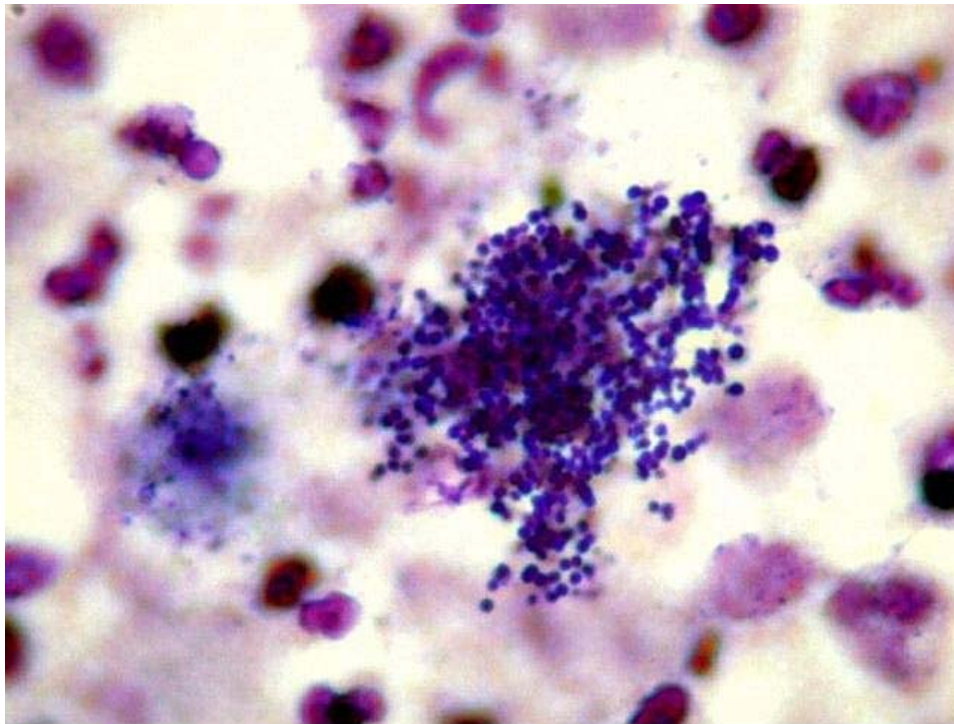


Imagen 11.- Cocos Gram + en muestra de líquido amniótico



Imagen 12.- *Streptococo anginosus* en medio de cultivo agar sangre.

La visualización de leucocitos en el LA fue algo habitual en el examen a la tinción de Gram, así como células epiteliales aisladas.

Los métodos de cultivo tradicionales de aerobios y anaerobios han tenido un comportamiento similar a los resultados ofrecidos por la tinción de Gram, siendo incapaces de detectar la presencia de *Fusobacterium nucleatum* (Imagen 12).

b) Cultivo para *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*.

Los medios de cultivo específicos para *Mycoplasma hominis*, y en especial para *Ureaplasma urealyticum* resultaron de gran utilidad. A pesar de que la sensibilidad del cultivo para *Ureaplasma urealyticum* fue menor que la de la PCR específica para este germen (el cultivo detectó 7/10, mientras que la PCR detectó 9/10), los resultados permitieron la realización de antibiograma en los casos de cultivo positivo, no siendo posible en los casos de PCR positiva pero con cultivo negativo. Además la utilización del medio de cultivo específico (Imagen 13) permitió la obtención de resultados en sólo 48 horas, frente a la semana que requiere el cultivo tradicional.

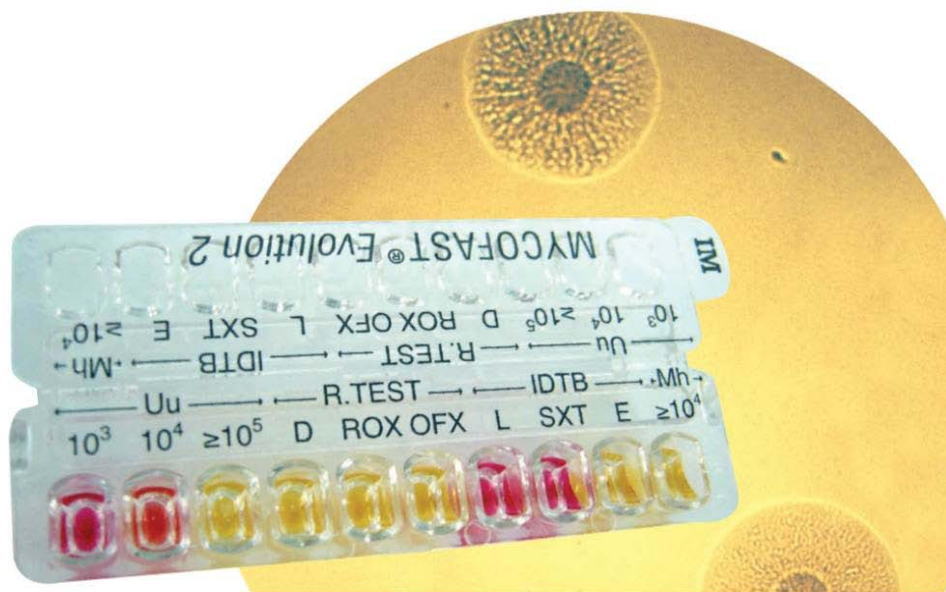


Imagen 13.- Medio de cultivo utilizado para la identificación de micoplasmas genitales.

c) PCR 16S. PCR *Mycoplasma genitalium* y *Ureaplasma urealyticum*.

La utilización de técnicas de PCR permite la detección de microbios sin necesidad de aislarlos en cultivos, superando así los sesgos inherentes de los métodos de cultivo tradicionales. Los ensayos iniciales de la PCR para la detección de microbios eran taxón-dependientes (es decir, dirigido hacia microbios en niveles taxonómicos estrechos, como especie o género). Sin embargo, el desarrollo de una amplia gama de PCR permitió la detección de microorganismos en niveles taxonómicos más amplios, tales como el dominio bacteria (que se compone de todas las especies bacterianas, entre ellas, las no cultivables y los miembros desconocidos). Esto se consigue por medio de los

cebadores de la PCR universal, que se unen a las regiones de secuencias conservadas de los genes que son ubicuos en microbios, tales como el ADN ribosomal 16S. Estas regiones conservadas están flanqueadas por regiones variables que también son amplificadas durante la reacción de PCR. La secuenciación de estas regiones variables permite hacer comparaciones de la secuencia de una base de datos de referencia, lo que permite la identificación microbiana. Los estudios (Tabla 9) en los que se han utilizado técnicas de PCR universal para el diagnóstico de IIA en casos de APP y de RPMP, en general muestran una prevalencia de IIA un 30% – 50 % más elevada, que en el caso de IIA diagnosticada mediante cultivo tradicional¹²⁴.

Estudio con PCR universal en el diagnóstico de IIA (indicación de la amniocentesis)	Sujetos del estudio (nº)	Prevalencia de IIA detectada por:			Especies (nº) microbianas detectadas por:		
		Cultivo	PCR	Cultivo + PCR	Cultivo	PCR	Cultivo + PCR
Hitti et al. ¹²⁵ (APP)	69	23.2%	30.4%	31.9%	-	-	-
Markenson et al. ¹²⁶ (APP)	54	9.3%	55.6%	55.6%	6	-	-
DiGiulio et al. ¹²³ (APP)	166	9.6%	11.4%	15.1%	11	14	18
Han et al. ¹²⁷ (APP)	26	38.5%	50%	50%	7	12	16
Marconi et al. ¹²⁸ (APP)	20	-	40%	40%	-	5	-
Jalava et al. ¹²⁹ (RPMP)	17	11.8%	17.6%	17.6%	2	3	5
Han et al. ¹²⁷ (RPMP)	20	30%	40%	40%	6	7	11
DiGiulio et al. ¹²² (RPMP)	204	34.3%	45.1%	49.5%	14	44	48

Tabla 9.- Estudios en los que se comunica la utilización de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) universal para el diagnóstico de IIA (infección intraamniótica) en casos de APP (amenaza de parto pretérmino) y de RPMP (rotura prematura de membranas pretérmino). Modificado de Di GiGiulio 2012.

Incluso esta mayor prevalencia en general es probablemente una subestimación debido a que la PCR es un método imperfecto y algunos estudios se vieron limitados por volúmenes de muestra^{122, 123}, o por la edad de la muestra¹²² (a medida que avanza el tiempo entre la obtención de la muestra y el procesamiento de la misma, disminuye la capacidad diagnóstica). La riqueza de especies es otro parámetro de la IIA que los métodos basados en el cultivo han subestimado en los estudios. El número de taxones detectado globalmente osciló desde aproximadamente 1,5 a 3,5 veces el número recuperado mediante métodos de cultivo tradicionales¹²⁴.

La utilización de PCR específicas para micoplasmas genitales, especialmente para *Ureaplasma urealyticum* se basa en la existencia de estudios que revelaban a *Ureaplasma urealyticum* como el germen más comúnmente involucrado en la IIA¹¹⁹. Fue Blanchard et al.^{130, 131} quien en 2 artículos informó por primera vez de la alta sensibilidad de la PCR para la detección de *Ureaplasma urealyticum* en el LA. Yoon et al.^{132, 133} en dos artículos así como Bujold et al.¹³⁴ demuestran que la detección de *Ureaplasma urealyticum* es mucho mayor cuando se utilizan técnicas de PCR específicas para este germen, frente al uso de cultivo.

Al analizar los resultados de la PCR universal 16S utilizada en este estudio, se puede observar como esta técnica fue capaz de detectar infección en todos los casos de IIA diagnosticada mediante técnicas de cultivo convencionales (aerobios, anaerobios, hongos), además de diagnosticar los casos de IIA producida por *Fusobacterium nucleatum*. No obstante, la PCR 16S no fue capaz de diagnosticar IIA por *Ureaplasma urealyticum* salvo en 1 único caso. Sin embargo, la PCR específica para *Ureaplasma urealyticum* diagnosticó todos los casos detectados por cultivo salvo 1, y además 3 casos no diagnosticados mediante cultivo.

d) PCR enterovirus y virus del grupo herpes.

El único caso en el que se diagnosticó la presencia de un virus en el LA corresponde a un caso de infección por CMV. No hubo casos de IIA por enterovirus u otros virus del grupo herpes diferentes al CMV.

Son pocos los estudios sistemáticos que se han llevado a cabo de prevalencia y diversidad viral en la cavidad amniótica. Wenstrom et al.¹³⁵ estudiaron 62 casos de pérdida espontánea del embarazo dentro de los 30 días posteriores a una amniocentesis. Utilizando técnicas de PCR frente a 7 taxones virales, los autores encontraron ácidos nucleicos virales en 8% (5/62) de los casos y 15% (9/60) de los controles. De los casos positivos, adenovirus representó la mayor parte (64%; 9/14), seguido por CMV (21%; 3/14), virus del herpes simple (7%; 1/14), y parvovirus humano B19 (7%; 1 / 14); no se encontraron casos de enterovirus, virus de Epstein-Barr o virus influenza A. Los autores concluyen que la presencia viral en el LA no se asocia

significativamente con la pérdida temprana del embarazo después de una amniocentesis.

Baschat et al.¹³⁶ utiliza un panel de PCR casi idéntico al de Wenstrom (Sustituye influenza A por el virus respiratorio sincitial (VRS)) para analizar 686 muestras de LA obtenidas en el segundo trimestre de la gestación. Encuentra ácidos nucleicos virales en el 6,4% (44/686). De las muestras positivas, el adenovirus representa la mayor parte (84%, 37/44), seguido por CMV (11%, 5/44), enterovirus (4,5%; 2/44), el virus de Epstein-Barr (4,5%; 2/44), y el VRS (2%, 1/44). Un estudio de seguimiento no encontró ninguna asociación entre una PCR viral positiva en con un resultado perinatal adverso¹³⁷.

e) Cultivo de hongos.

A lo largo de este estudio se ha observado ningún caso de IIA causada por hongos. Los miembros del género *Cándida* parecen ser los únicos hongos que invaden la cavidad amniótica con una frecuencia apreciable. *Cándida albicans* es, con mucho, la especie más recuperada directamente de LA, pero *Cándida glabrata* también se ha aislado en la cavidad amniótica¹³⁸, así como *Cándida parapsilosis*¹³⁹. A pesar de la importancia clínica de las especies de *Cándida* (prevalencia de un 38% en vagina en el caso de mujeres embarazadas¹⁴⁰), son invasores poco frecuentes de la cavidad amniótica en base a su baja prevalencia en el LA¹⁴¹. Probablemente esto se debe al carácter oportunista de estos hongos. Múltiples estudios han asociado la presencia de IIA por *Cándida* spp con la existencia de DIUs y/o cerclajes^{138, 141 – 144}.

4.2.- Gérmenes identificados.

Coincidiendo con la bibliografía internacional, el germen que con más frecuencia ha sido identificado en este estudio, fue *Ureaplasma urealyticum*^{95, 119, 122, 123, 127, 129, 145}. Sin embargo, sólo se encuentra 1 caso de infección polimicrobiana (7% de total de pacientes en las que se identificó gérmenes en el LA), lo que supone una tasa mucho menor a la reportada en la bibliografía internacional (24% – 67%)¹²⁴.

Al examinar el agente etiológico en función de la indicación de la amniocentesis (figura 34), se observa como *Ureaplasma urealyticum* es el germen más prevalente en casos de RPMP seguido de *Estreptococo spp*; del mismo modo *Ureaplasma urealyticum* es el germen más prevalente en casos de APP seguido por *Fusobacterium nucleatum*.

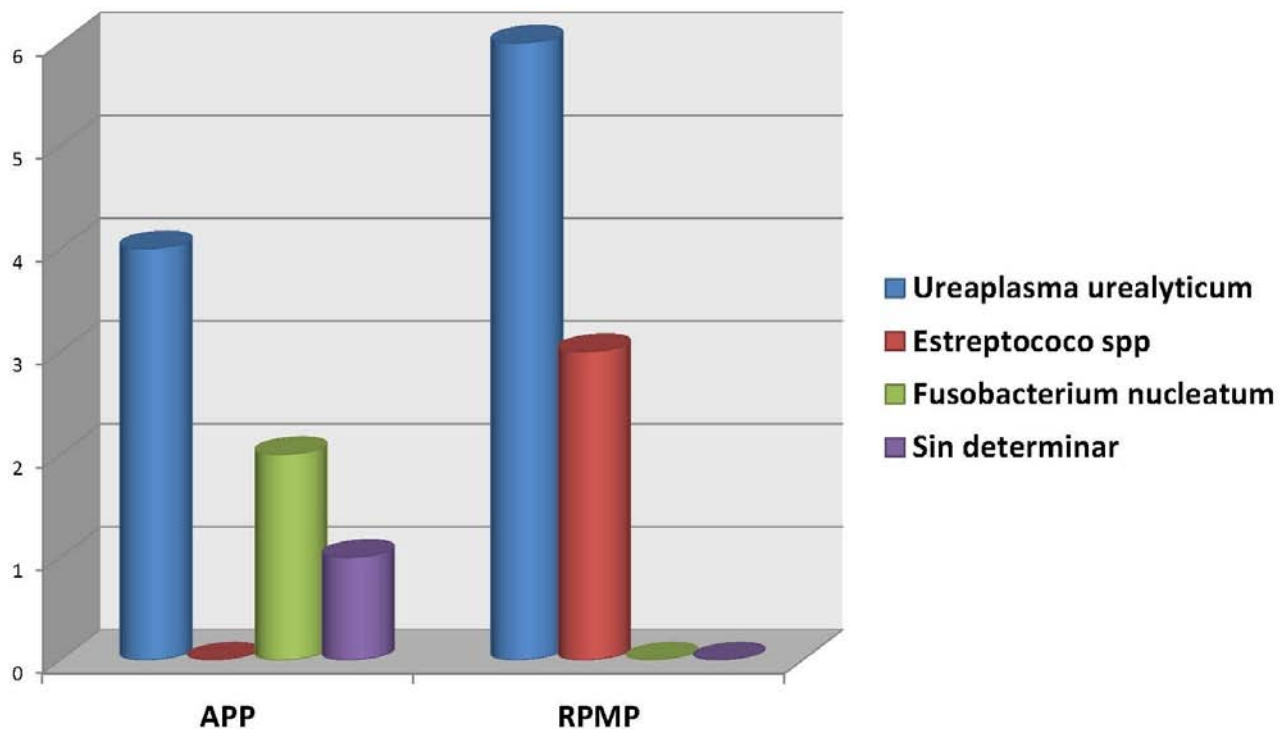


Figura 34.- Distribución de los casos en función del agente etiológico y de la indicación de la amniocentesis. APP = amenaza de parto pretérmino, RPMP = rotura prematura de membranas pretérmino.

Una distribución similar podemos encontrar en los estudios que utilizan PCR universal para el diagnóstico de gérmenes en la cavidad amniótica (Figura 35).

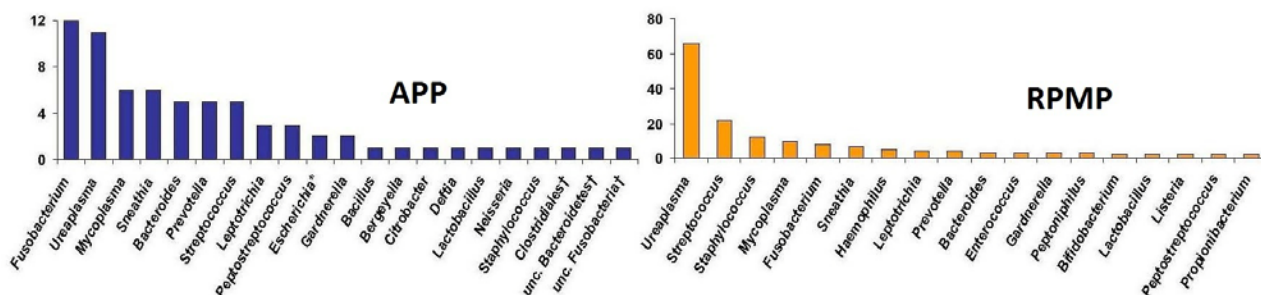


Figura 35.- Gérmenes identificados mediante PCR según indicación. Modificado de DiGiulio 2012. APP = amenaza de parto pretérmino, RPMP = rotura prematura de membranas pretérmino.

a) *Ureaplasma urealyticum*.

Ureaplasma urealyticum es la especie bacteriana más frecuentemente identificada en el LA^{119, 122, 123, 127, 129, 145}. U. Es parte normal de la flora genital tanto de hombres como de mujeres, pues se encuentra en cerca del 70% de los humanos activos sexualmente. Se puede encontrar hasta en un 12% de las muestras de LA durante el segundo trimestre, a pesar de que causa el parto pretérmino en menos del 25% de los casos mientras que la mayoría de los embarazos evolucionan con normalidad. *Ureaplasma urealyticum* puede persistir durante mucho tiempo en el LA sin ningún tipo de respuesta. Esto podría ser debido a la baja patogenicidad de esta especie bacteriana, que implicaría que pequeñas cantidades de *Ureaplasma urealyticum* no serían capaces de inducir inflamación¹⁴⁶, ya que la inducción de APP parece depender de si las bacterias producen una reacción inflamatoria¹⁴⁷. Sin embargo, Gerber et al.¹⁴⁸ comunica que la detección de *Ureaplasma urealyticum* mediante PCR en el LA en el segundo trimestre en gestantes asintomáticas se correlaciona fuertemente con APP y parto pretérmino. Ovalle et al.¹¹⁹ describen que la IIA por *Ureaplasma urealyticum* cuando esta es la única bacteria implicada, se asocia con menor frecuencia a resultados adversos perinatales de forma independiente a la administración de antibióticos de amplio espectro. No obstante, se ha comunicado una mayor tasa de inflamación intraamniótica cuando la IIA está producida por micoplasmas genitales⁹⁵. La frecuencia relativamente alta con la que este germen se aísla en mujeres embarazadas sin APP, que logran un parto a término, sugiere que este microorganismo requiere de otros factores concomitantes para la generación de una APP. Esto

podría explicar por qué algunos autores no han encontrado una relación significativa entre la colonización por este microorganismo y la APP¹⁴⁹.

La demostración de que *Ureaplasma urealyticum* es el germen más frecuentemente involucrado en la RPMP ha permitido adecuar los protocolos de profilaxis antibiótica en aquellos casos de manejo expectante de la RPMP, así como la antibioterapia utilizada por el servicio de neonatología en casos de recién nacidos pretérmino. En ambos casos se ha añadido azitromicina al protocolo antibiótico (ampicilina + gentamicina en ambos casos).

b) *Fusobacterium nucleatum*.

Fusobacterium nucleatum es la segunda especie bacteriana más frecuentemente identificada en el LA^{119, 122, 123, 127, 129, 145}. Constituye en los humanos uno de los principales tipos de flora del aparato digestivo, encontrándose en muchas partes del tracto gastrointestinal. Cada vez se encuentra más evidencia científica que sugiere que la enfermedad periodontal (combinación de infección e inflamación de los tejidos gingivales que conducen a la destrucción de los tejidos de soporte de los dientes), podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de IIA¹⁵⁰. Diversos autores han sugerido una asociación entre la salud periodontal y las complicaciones del embarazo^{151, 152}. Varias hipótesis se han formulado para explicar la llegada de gérmenes procedentes de la cavidad oral a la cavidad amniótica¹⁵⁰:

- Extensión vertical de bacterias procedentes de la flora oral de la pareja y colonización del tracto genital de la madre durante el contacto oral-genital.
- Diseminación hematógena de bacterias desde la cavidad bucal de la paciente.

Probablemente la vía hematógena es la ruta más plausible. *Fusobacterium spp* está comúnmente involucrado en una bacteriemia transitoria tras instrumentaciones dentales^{153, 154}. Estudios realizados en ratas embarazadas han demostrado que *Fusobacterium nucleatum* inyectado por vía intravenosa puede invadir la placenta, proliferar en los tejidos periféricos, extenderse al LA, y provocar APP¹⁵⁵. Los estudios realizados en mujeres

embarazadas con IIA por *Fusobacterium* revelaron que este género estuvo ausente en la vagina, pero presente en la placa dental de la mayoría de las participantes (6/7) lo que sugiere un origen oral¹⁵⁶.

En las dos pacientes en las que *Fusobacterium nucleatum* fue identificado en el LA se encontró patología de la cavidad oral. La primera de ellas relató la presencia de un absceso periodontal tratado en las semanas previas al episodio de APP. En el segundo de los casos, la paciente presentó gingivorragias de repetición durante el mes previo al ingreso por APP.

c) *Streptococo* spp.

Los 3 casos detectados de *Streptococo* corresponden a 2 casos de *Streptococo mitis/oralis*, y 1 caso de *Streptococo anginosus*. A diferencia del *Streptococo agalactiae* que tiene su reservorio habitual en la vagina y el recto, estos dos gérmenes son comensales habituales de la cavidad oral. Por tanto la fisiopatología que explicaría su acceso es la misma que en el caso de *Fusobacterium nucleatum*, es decir por vía hematológica desde la cavidad oral (Figura 36), o quizás tras la colonización de la vagina de la gestante con estos gérmenes desde la cavidad oral de la pareja al practicar sexo oral¹²⁴.

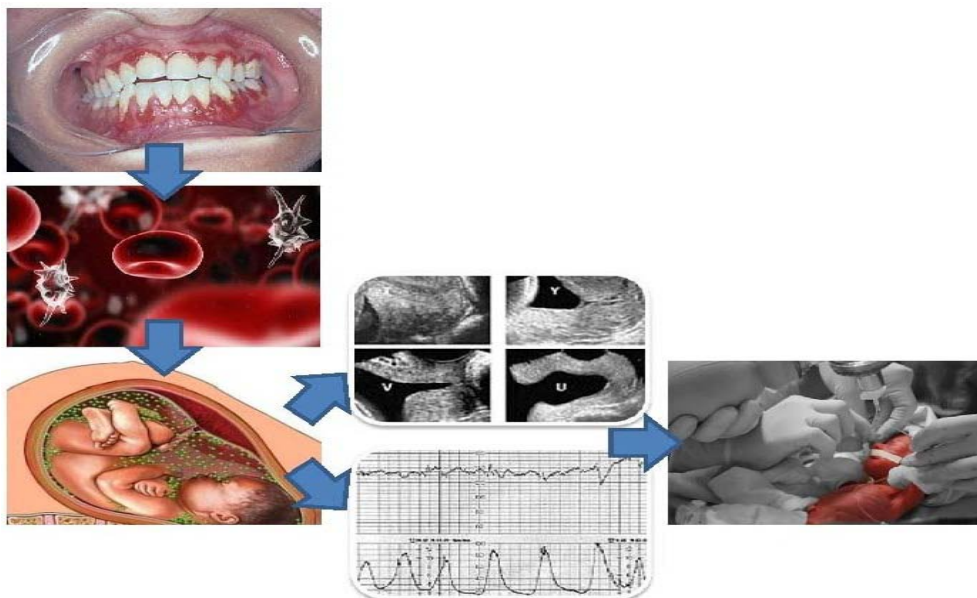


Figura 36.- Esquema propuesto para la corioamnionitis producida por gérmenes desde la cavidad oral. Pacientes con enfermedad periodontal experimentarían una bacteriemia transitoria permitiendo el acceso de los gérmenes a la cavidad amniótica, lo que generaría contracciones uterinas y modificaciones cervicales, y en última instancia el parto pretérmino.

4.3.- Resultados del laboratorio de urgencias.

a) Determinaciones de leucocitos.

Está bien documentada en la literatura internacional la relación entre la IIA y un recuento alto de leucocitos en el LA^{157 – 160}. En 1997 Sampson et al.¹⁶⁰ demostraron que los leucocitos detectados en el LA son de origen fetal, y que por lo tanto el aumento de estos en el LA es expresión de una respuesta inflamatoria del feto. Estos autores estudian cuatro casos de APP con sospecha de IIA con fluorescencia de hibridación in situ, demostrando que el feto era la principal fuente de células inflamatorias en el LA. Proponen que la manera más directa por la cual los leucocitos polimorfonucleares fetales acceden al LA sería por la transmigración desde el endotelio fetal en vasos en el espacio alveolar del pulmón. Alternativamente, leucocitos polimorfonucleares fetales podrían migrar desde vasos en el corion o en la superficie de la placenta, los cuales presentan un sistema de relativo bajo flujo. A pesar de que los leucocitos polimorfonucleares fetales no pueden contribuir a la defensa del huésped en la infección ya que son menos eficientes que los adultos, su acumulación en el LA puede acelerar el parto pretérmino. La secreción de citoquinas por las células inflamatorias se ha postulado que desempeña un papel fundamental en la iniciación de la cascada del parto, mediante la estimulación de la síntesis de prostaglandinas, en el marco de un parto pretérmino de etiología infecciosa¹⁶¹. Los leucocitos polimorfonucleares sintetizan y secretan una variedad de citoquinas, y de hecho los leucocitos polimorfonucleares neonatales producen cantidades considerablemente superiores de interleucina-1 beta a la que producen los leucocitos polimorfonucleares adultos¹⁶².

Al consultar el valor de leucocitos por encima del cual se interpreta que existe una IIA^{157 – 160}, se encuentran valores que oscilan entre 25 – 50 leucocitos / mm³. El hecho de que en el presente trabajo se eligiera el punto de corte más alto (50 leucocitos / mm³) existente en la literatura internacional, obedece al objetivo de alcanzar la máxima especificidad posible a la hora de diagnosticar una IIA, intentado evitar la presencia de falsos positivos. De hecho, al situar el punto de corte de IIA en 50 leucocitos / mm³, se alcanzó una

sensibilidad del 79% y una especificidad del 96%. Esto quiere decir que se encontraron niveles iguales o superiores a 50 leucocitos / mm³ en 14 de 19 muestras infectadas, y que sólo en 1 de los casos en los que no había infección se superó este valor, es decir sólo hubo 1 falso positivo.

En cualquier caso, lo más recomendable es el establecimiento de curvas ROC, para fijar los puntos de corte de mayor rendimiento diagnóstico en cuanto a sensibilidad y especificidad se refiere, ya que el recuento está sujeto a variaciones según distintos laboratorios. Según la curva ROC realizada para el recuento de leucocitos en el LA, un valor de 56 leucocitos / mm³ sería el ideal para la población estudiada. Si se hubiera aplicado este punto de corte no se habría modificado la sensibilidad de la prueba, pero si habría aumentado la especificidad de la misma hasta el 100%.

b) Determinaciones de ácido láctico.

La inclusión de la determinación de ácido láctico en las muestras de LA de aquellas pacientes con sospecha de IIA responde al objetivo de encontrar un nuevo marcador de infección en el LA. La hipótesis de que este parámetro podría estar aumentado en el LA en casos de IIA se formuló por analogía a las situaciones de meningoencefalitis, en las que se encuentra un aumento significativo del ácido láctico en el líquido cefalorraquídeo (LCR) cuando la infección está producida por una bacteria.

Con el objetivo de encontrar un punto de corte para los valores de ácido láctico en el LA se ha elaborado una curva ROC con los valores obtenidos en todas las determinaciones. El punto de corte obtenido fue 9.95 mmol / L, mostrando una elevada especificidad (88'5%) pero muy baja sensibilidad (57'9%). Por tanto no es un buen valor predictor de IIA ya que tiene una muy elevada tasa de falsos negativos.

Probablemente, la explicación de que el ácido láctico no sea un buen marcador de IIA se deba a la fisiopatología de su aumento en el LA, muy diferente a la fisiopatología de su aumento en el LCR. Para explicar la elevación del ácido láctico en el LCR de las meningoencefalitis bacterianas se han empleado varias hipótesis, considerando como más probable la que se

fundamenta en la observación de una disminución del riego cerebral, que ocurre en diversas agresiones neurológicas con la consiguiente hipoxia, catabolismo anaeróbico y formación de ácido láctico que pasa posteriormente al LCR¹⁶³. En el caso del aumento en el LA, probablemente esté más en relación con la fatiga del miometrio, ya que se ha propuesto que durante el parto disfuncional la fuerza de las contracciones del músculo liso se reduce por la hipoxia, produciéndose un aumento de la formación de ácido láctico¹⁶⁴.

c) Determinaciones de glucosa.

Son múltiples las referencias en la literatura que otorgan valor diagnóstico de IIA a los niveles disminuidos de glucosa en el LA^{165 - 170}. El mecanismo por el que la glucosa disminuye en el LA en casos de IIA consiste en el consumo tanto por las bacterias como por los neutrófilos.

Al consultar la concentración de glucosa por debajo de la cual se interpreta que existe una IIA^{165 - 170}, se encuentran valores que oscilan entre 5 – 20 mg / dl. Al igual que en el caso del recuento de leucocitos en el LA, el hecho de que en el presente trabajo se eligiera un punto de corte bajo (10 mg / dl) entre los recogidos en la literatura internacional, obedece al objetivo de alcanzar la máxima especificidad posible a la hora de diagnosticar una IIA, intentado evitar la presencia de falsos positivos. De hecho, al situar el punto de corte de IIA en 20 mg / dl, se alcanzó una sensibilidad del 69% y una especificidad del 100%. Esto quiere decir que se encontraron niveles iguales o inferiores a 10 mg / dl de glucosa en 10 de 18 muestras infectadas, y que no hubo falsos positivos.

Una vez más, lo más recomendable es el establecimiento de curvas ROC, para fijar los puntos de corte de mayor rendimiento diagnóstico en cuanto a sensibilidad y especificidad se refiere, ya que la determinación de glucosa está sujeta a variaciones según distintos laboratorios. Según la curva ROC realizada para la determinación de la glucosa en el LA, un valor de 22'5 mg / dl sería el ideal para la población estudiada. Si se hubiera aplicado este punto de corte habría aumentado la sensibilidad de la prueba hasta 77'8% (con el punto de corte en 10 mg / dl, fue del 69%), a expensas de una pérdida de especificidad que hubiera bajado del 100% hasta el 85%.

d) Comparación con resultados de la literatura internacional.

Al compara las cifras de especificidad, sensibilidad, valor predictivo positivo, y valor predictivo negativo; con las reportadas por otros autores en estudios similares podemos encontrar las siguientes diferencias (Tabla 10):

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VALOR PREDICTIVO POSITIVO	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
Recuento de leucocitos Hospital Universitario La Paz	79%	96%	92%	83%
Recuento de leucocitos Romero et al. ¹⁵⁷	80%	87'64%	48'78%	96'75%
Determinación de glucosa Hospital Universitario La Paz	69%	100%	100%	76%
Determinación de glucosa Kirshon et al. ¹⁶⁹	75%	100%	100%	90%

Tabla 10.- Comparación de los datos obtenidos en cuanto a recuento de leucocitos y concentración de glucosa en líquido amniótico en pacientes con sospecha de infección intraamniótica en el Hospital Universitario La Paz, con los datos procedentes de estudios similares.

Al comparar los resultados en cuanto al recuento de leucocitos con los aportados por Romero et al.¹⁵⁷, encontramos cifras muy similares salvo en el valor predictivo positivo, donde los datos aportados por el Hospital Universitario La Paz son superiores. No obstante conviene decir que el estudio de Romero et al.¹⁵⁷ consta de 195 pacientes, mientras que el presente trabajo evaluó el número de leucocitos en LA en 45 muestras.

En cuanto a la concentración de glucosa, los datos son muy similares a los proporcionados por Kirshon et al.¹⁶⁹, el cual evalúa una población similar de pacientes, realizando 39 determinaciones.

5.- Resultados perinatales.

5.1.- Resultado obstétrico.

La vía del parto debe ser analizada en dos grupos diferentes en función de la edad gestacional. La edad gestacional media al parto en el caso de la presencia de corioamnionitis fue de 27'1 semanas, en cambio en el grupo sin infección la edad gestacional media al parto ascendió hasta 34'9 semanas. Esto determina que en los casos de corioamnionitis la tasa de cesáreas ascendió hasta el 77'3%, situándose en el 41'4% en los casos en que no hubo infección.

Sin embargo al relacionar el valor del pH en arteria umbilical al nacimiento con la presencia o ausencia de corioamnionitis no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Tampoco se encontraron diferencias al examinar los valores de pH en función de la presencia o ausencia de funisitis en el cordón umbilical.

El aumento de los nacimientos pretérmino en Estados Unidos se ha producido simultáneamente con el aumento temporal de la tasa de nacimientos pretérmino indicados. Por ejemplo, desde 1989 hasta 2000, los nacimientos pretérmino de embarazos de feto único de menos de 37 semanas aumentaron aproximadamente un 50%. De hecho, algunos investigadores han interpretado que el aumento de la tasa de nacimientos pretérmino está relacionado con el aumento de los partos por cesárea. Sin embargo, a pesar de estas tendencias generales, la medida en que los cambios del parto por cesárea, especialmente en gestaciones pretérmino, se asocian con los cambios específicos de la edad gestacional sobre la mortalidad perinatal sigue siendo poco conocida¹⁷¹. Existen pocos estudios que comparen de forma randomizada la práctica de una cesárea electiva frente a la evolución espontánea del parto vaginal en los casos de fetos pretérmino. Según una revisión de la biblioteca Cochrane¹⁷², no existen diferencias en la incidencia de morbilidad neonatal, test de Apgar, necesidad de intubación, ingreso en la unidad de cuidados intensivos o infección neonatal. Existe controversia sobre el papel del trabajo de parto y la vía del parto en la presencia de daño neurológico y parálisis cerebral del recién nacido pretérmino o de bajo peso. Aunque muchos estudios han sugerido que los recién nacidos

de bajo peso que han nacido tras trabajo de parto o por vía vaginal tienen más riesgo de HIV^{173 – 178}, otros estudios no han encontrado esta relación^{179 – 182}. Cabe destacar que en determinados grupos de pacientes, el hecho de practicar una cesárea para finalizar la gestación, se ha asociado a una importante disminución del riesgo de HIV, como en el caso de sospecha de corioamnionitis¹⁷⁸. En el presente estudio no se ha observado una asociación entre la vía del parto y la HIV.

En varias ocasiones se ha repetido en este trabajo el dato de que a medida que desciende la edad gestacional al parto, aumentan las tasas de corioamnionitis¹²⁴. Al examinar la edad gestacional de los 51 neonatos, este hecho queda de manifiesto (Figura 37).

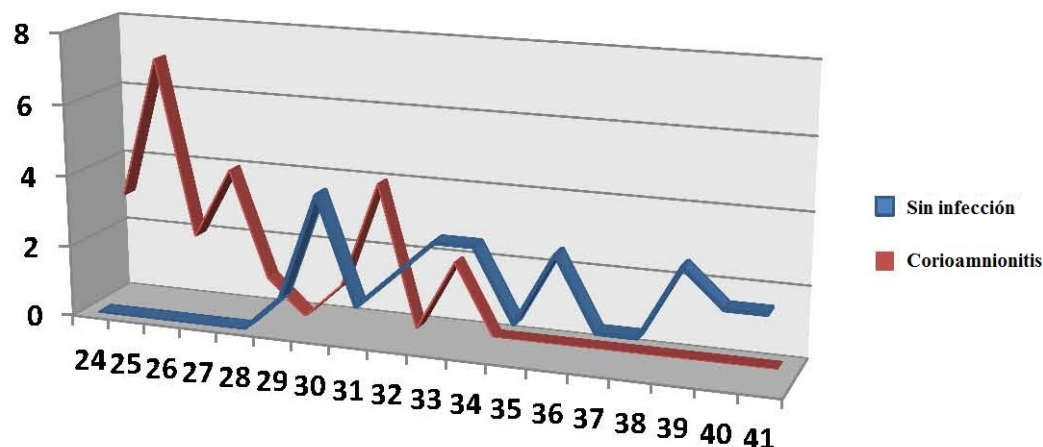


Figura 37.- Distribución de los casos por semanas gestacionales en función de la presencia o no de corioamnionitis. Obsérvese como no hay casos sin infección hasta la semana 29, y como a partir de la semana 33 no existen casos de corioamnionitis.

Por tanto, se puede concluir que la IIA no es sólo una importante cause de APP y RPMP, sino que además es la causa fundamental del parto pretérmino en las semanas gestacionales más tempranas dentro de la viabilidad. De hecho el poder descartar una IIA en una situación de APP y RPMP se ha revelado como un factor de muy buen pronóstico, ya que según la serie presentada en situaciones de APP y RPMP:

- Cuando existe una IIA el 70% de los neonatos nace por debajo de la semana 28 de gestación.

- Cuando no existe una IIA el 75% de los neonatos nace por encima de la semana 32 de gestación.

Este dato permite informar a la gestante tributaria de amniocentesis diagnóstica por sospecha de IIA, que la negatividad de la prueba supone un factor de buen pronóstico para que su embarazo se prolongue hacia el término.

5.2.- Morbi-mortalidad neonatal.

Las 2 muertes neonatales están en íntima relación con la prematuridad extrema, ya que en ambos casos no se alcanzaba la semana 25 de gestación. Es difícil conocer el papel exacto que juega la IIA en la morbi-mortalidad de los neonatos, ya que la mayoría de los casos acontece por debajo de la semana 28 de gestación, siendo complicado diferenciar si la patología del neonato está más influenciada por la prematuridad extrema o por el antecedente infeccioso. En cualquier caso, la causa de dicha prematuridad es la propia IIA formando un binomio corioamnionitis-prematuridad que resulta fatal para el neonato.

a) Enterocolitis necrotizante.

No parece que exista una relación de causalidad entre la corioamnionitis y el desarrollo de NEC en el neonato. En este trabajo no se han podido relacionar ambas entidades. Alrededor del 90% de los casos de NEC se producen en neonatos pretérmino que han sido alimentados por vía enteral. Los siguientes factores debidos a la inmadurez del tracto gastrointestinal y del sistema inmune se piensa que predisponen a los neonatos pretérmino al desarrollo de NEC^{183, 184}:

- ✓ Inmadurez de la barrera de la mucosa gastrointestinal con aumento de la permeabilidad y penetración de bacterias en la pared intestinal (translocación), en comparación con recién nacidos a término.
- ✓ Inmadurez de las defensas locales disminución de las concentraciones de IgA secretora, enzimas de la mucosa (por ejemplo, la pepsina y las proteasas) y otros agentes de protección (por ejemplo, lactoferrina), así

como aumento del pH gástrico, lo que promueve el sobrecrecimiento bacteriano.

- ✓ Motilidad y función del intestino inmaduro. Los neonatos pretérmino tienen disminuida la motilidad del intestino delgado, lo que determina un retraso en el tránsito, aumentando la proliferación bacteriana¹⁸⁵.

La administración antenatal de glucocorticoides madura la función de la barrera intestinal, por lo que ha sido propuesta para reducir la incidencia de NEC^{186, 187}.

b) Daño neurológico.

La HIV es una complicación grave del neonato pretérmino, de tal forma que grandes hemorragias o hemorragias asociadas a lesiones del parénquima cerebral pueden producir una alta tasa de discapacidad en el futuro. La HIV masiva puede causar la muerte por shock hipovolémico, mientras que grandes hemorragias pueden resultar en hidrocefalia en el neonato superviviente¹⁸⁸.

La HIV en los neonatos pretérmino se origina en los capilares de la matriz germinal subependimaria. La especial vulnerabilidad de estos neonatos se cree que se debe a que la matriz germinal subependimaria es rica en vasos inmaduros con escaso respaldo de tejido conectivo, a las fuertes fluctuaciones en el flujo sanguíneo cerebral, y a la presencia de problemas respiratorios graves que derivan en cambios importantes en la presión intratorácica y venosa que se transmiten a la frágil matriz germinal; el plexo coroideo también puede ser una fuente de sangrado ser el único sitio de origen de HIV. Además, existe evidencia de un círculo vicioso en el que la isquemia seguida por la reperusión juega un papel en la patogénesis de la HIV, de tal forma que la isquemia cerebral puede ser consecuencia de una hemorragia intraventricular. Esta cadena de eventos puede dar lugar a la aparición de infartos hemorrágicos periventriculares que son típicamente unilaterales y en continuidad con el margen lateral del ventrículo. Otra etiología de la hemorragia intraventricular se piensa que es la obstrucción del drenaje venoso por un coágulo de sangre en la matriz germinal¹⁸⁸.

Clásicamente la HIV se divide en 4 grados atendiendo a su severidad¹⁸⁹:

- [1] Grado I se limita a la subependimaria de la matriz germinal sin coágulo de sangre en la luz ventricular (Imagen 14).

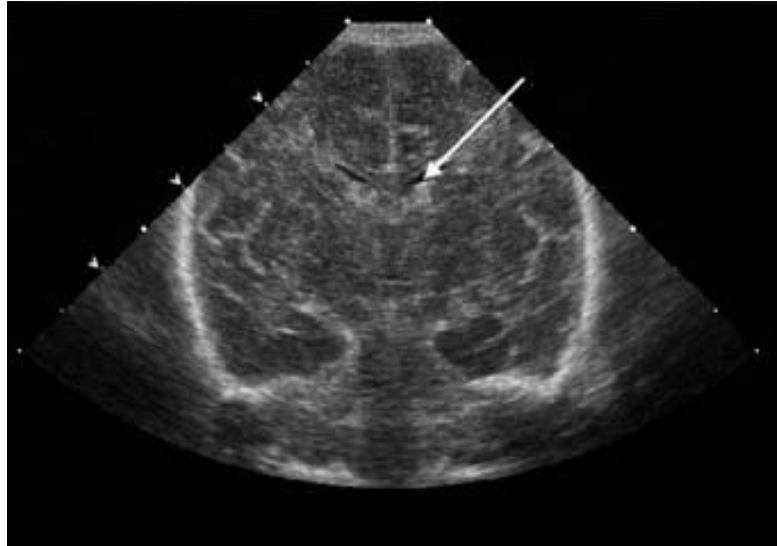


Imagen 14.- Hemorragia intraventricular grado I

- [2] Grado II se define por la presencia de sangre dentro de la luz ventricular, pero sin dilatación ventricular.

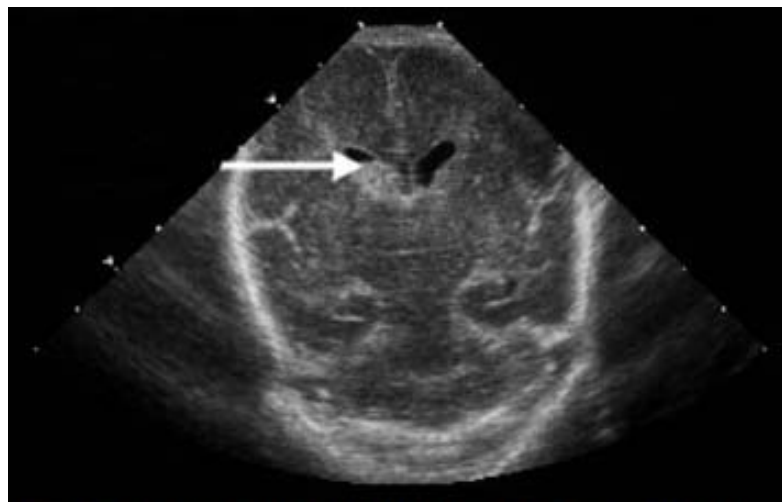


Imagen 15.- Hemorragia intraventricular grado II.

- [3] Grado III se compone de hemorragia intraventricular con dilatación ventricular.

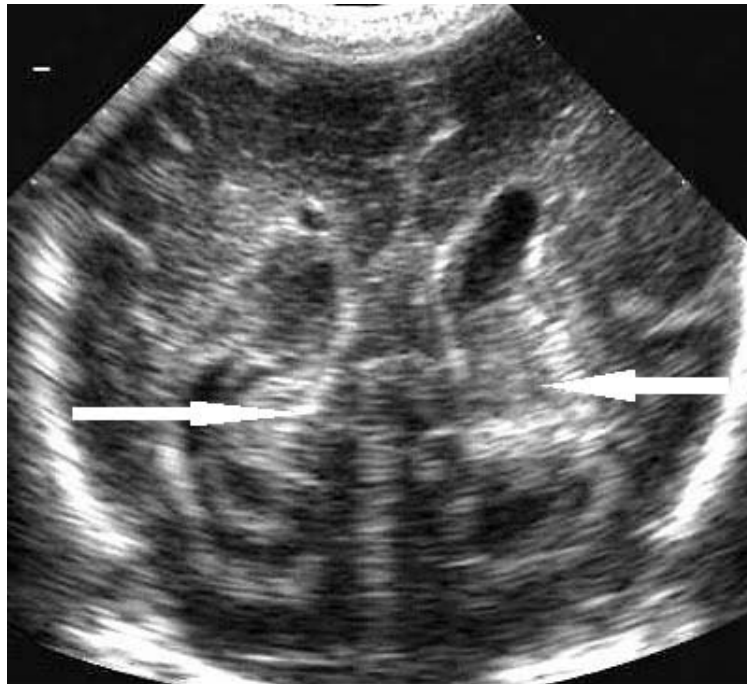


Imagen 16.- Hemorragia intraventricular grado III

- [4] Grado IV HIV que además compromete al parénquima cerebral.

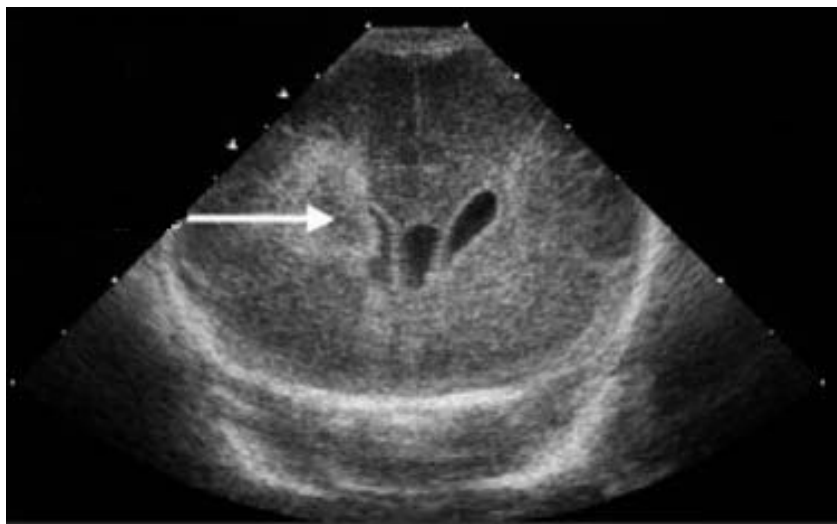


Imagen 17.- Hemorragia intraventricular grado IV.

No se han evaluado en este trabajo el desarrollo de lesiones de LPV, así como de parálisis cerebral, ya que estas han de ser evaluadas en un seguimiento a largo plazo.

A pesar de que en el análisis multivariante la asociación entre corioamnionitis y HIV perdió su importancia en virtud de la prematuridad, parece existir una tendencia clara hacia esta asociación, la cual probablemente requiera de mayor número de casos para asentarse.

c) Oxigenoterapia de los neonatos. Displasia broncopulmonar.

A pesar de los recientes avances en la atención neonatal para reducir al mínimo la lesión pulmonar por la ventilación mecánica después del parto, la incidencia DBP sigue siendo elevada en los recién nacidos extremadamente pretérmino (< 28 semanas) expuestos a infección / inflamación prenatal. Los hallazgos pulmonares patológicos que caracterizan la DBP en los recién nacidos extremadamente pretérmino incluyen inflación más uniforme, menos alvéolos pero más grandes, fibrosis leve, e inflamación menos fulminante pero más persistente. La DBP se asocia con estancias hospitalarias más largas, costos médicos más altos, y otras morbilidades de la prematuridad incluyendo retrasos del desarrollo neurológico, y resultados pulmonares adversos en la infancia y tras esta¹⁹⁰.

Estudios en los últimos 15 años han encontrado asociación entre la corioamnionitis y una reducción^{191 – 194} o no^{120, 195, 196} sobre el riesgo de SDR; y han relacionado la IIA con un aumento^{120, 195, 197}, una disminución¹⁹⁸ o ningún efecto^{192, 196, 198, 199, 200} sobre el riesgo de DBP. Esto puede ser debido a la imprecisión de los diagnósticos clínicos de SDR y DBP, la naturaleza multifactorial de la enfermedad, y la variabilidad de las poblaciones de estudio así como de las prácticas clínicas¹⁹⁰.

Modelos animales de infección / inflamación intrauterina proporcionan evidencia experimental sobre un desarrollo pulmonar alterado que da lugar a una maduración funcional acelerada y a la detención de la alveolarización y del desarrollo vascular. Estos modelos también demuestran el papel central del sistema inmune en la patogénesis de la lesión pulmonar neonatal¹⁹⁰.

A pesar de encontrar una fuerte asociación estadística en el análisis univariante entre los días de oxigenoterapia, la necesidad de oxigenoterapia, y el desarrollo de DBP, con la presencia de corioamnionitis; en el análisis

multivariante la prematuridad sigue siendo el factor fundamental. A pesar de esto, parece observarse la tendencia demostrada en el modelo experimental y que relaciona infección y lesión pulmonar en el neonato. El hecho de este estudio esté hecho sólo en gestantes con sospecha de IIA disminuye el número de neonatos con el que comparar el grupo de corioamnionitis, perdiendo esta su importancia en el análisis multivariante.

d) Morbilidad infecciosa del neonato.

Varios autores han demostrado la asociación entre corioamnionitis y marcadores de infección en el neonato^{71, 72}. Wu et al.²⁰¹ llevan a cabo un análisis retrospectivo sobre 77 neonatos pretérmino que ingresan en la unidad de cuidados intensivos, encontrando que la corioamnionitis histológica se correlacionó significativamente con una menor edad gestacional, mayor nivel de proteína C reactiva de los neonatos, mayor leucocitosis materna, y una tasa más alta de RPMP prolongada.

Los datos obtenidos al evaluar la incidencia de sepsis nosocomial también se relacionan fuertemente con la presencia de corioamnionitis, no obstante al igual que en el caso de la infección al nacimiento, la prematuridad es una variable más fuerte en el análisis multivariante. Probablemente tenga más sentido una asociación entre la prematuridad y la sepsis nosocomial, ya que cuanto más inmaduro es el neonato, más días requerirá de ingreso en una unidad de cuidados intensivos neonatales, y por tanto mayor será el tiempo que estará expuesto al desarrollo de una sepsis nosocomial.

En general el análisis estadístico de la morbilidad en el neonato se ve interferido por la prematuridad. Esto se debe a que los casos en que se desarrolló una corioamnionitis la semana gestacional fue muy inferior a los casos en los que no se desarrolló. Por tanto la morbilidad neonatal debe ser comparada con sujetos sin infección para la misma edad gestacional.

VI CONCLUSIONES


Tras el análisis y discusión de los resultados de este trabajo, se pueden emitir las siguientes conclusiones:

- ❖ Las buenas cifras en cuanto a validez estadística del diagnóstico microbiológico en el líquido amniótico, convierten a la amniocentesis diagnóstica en un arma muy eficaz dentro del manejo de la amenaza de parto pretérmino y de la rotura prematura de membranas pretérmino. El resultado positivo o negativo de infección en el líquido amniótico tiene valor pronóstico en la evolución de la gestación.
- ❖ Los resultados derivados del análisis de las cifras de leucocitos y glucosa en el líquido amniótico, reflejan que tienen un elevado poder diagnóstico de infección, presentando un coste muy inferior (la determinación se realiza en el laboratorio de urgencias mediante técnicas de rutina) que el coste derivado del diagnóstico microbiológico. Además los resultados están disponibles de forma inmediata, a diferencia de los datos microbiológicos (salvo la tinción de Gram).
- ❖ El agente etiológico de infección intraamniótica más frecuente en casos de amenaza de parto pretérmino y rotura prematura de membranas pretérmino es la bacteria *Ureaplasma urealyticum*.
- ❖ Dentro de la población de riesgo seleccionada, se observa que el establecimiento y desarrollo de una corioamnionitis lleva implícito en un alto porcentaje de casos (mas del 75%), la aparición indefectible de signos y síntomas de amenaza de parto pretérmino y/o rotura prematura de membranas pretérmino.
- ❖ La amniocentesis diagnóstica a pesar de ser un proceder diagnóstico invasivo, fue bien aceptada y tolerada. Fue rechazada sólo por una paciente, y existió una complicación grave en relación causal con la punción. Esta última consideración nos hace pensar que sus riesgos puedan ser algo superiores a los inherentes a una amniocentesis genética.

- ❖ El análisis de la morbilidad perinatal señala la evidencia de un efecto deletéreo de la corioamnionitis sobre el feto y el neonato en íntima relación con su intensidad y duración. No obstante es necesaria la comparación con un grupo control de la misma edad gestacional para excluir la prematuridad como factor preponderante.
- ❖ El conocimiento de la flora bacteriana responsable de la infección intraamniótica ha permitido establecer nuevas pautas antibióticas, tanto en el caso de la usada para el manejo expectante de la rotura prematura de membranas pretérmino, como en el caso de la administración profiláctica de antibióticos a los neonatos prematuros. En ambos casos se ha añadido un macrólido (azitromicina) para cubrir *Ureaplasma urealyticum*.

VII ANEXOS

Anexo 1.- Consentimiento informado de amniocentesis diagnóstica del Hospital Universitario La Paz.

 <p>Hospital Universitario La Paz SaludMadrid Comunidad de Madrid</p> <p>Paseo de la Castellana, 261 28046 MADRID ☎ 91 727 70 00</p>	<p align="center">ETIQUETA (EN SU DEFECTO, INDIQUE NOMBRE Y UBICACIÓN DEL PACIENTE)</p> <p>NOMBRE:</p> <p>PROCEDENCIA (CAMA): NHC :</p> <p>FECHA :/...../..... GÉNERO :</p>
<p align="center">CONSENTIMIENTO INFORMADO IDENTIFICACIÓN: M-OBS-001</p>	<p align="center">SERVICIO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA</p>
<p align="center">AMNIOCENTESIS NO GENÉTICA</p>	
<p align="center">¿QUÉ LE VAMOS A HACER?</p>	
<p>1. Descripción del procedimiento</p> <ul style="list-style-type: none"> • En qué consiste: Extraer líquido amniótico para su análisis. • Cómo se realiza: Se trata de una técnica invasiva que consiste en la introducción de una aguja a través de la pared abdominal materna, del útero y de la bolsa de las aguas y a través de ella extraer líquido amniótico para el estudio requerido. No precisa de anestesia local, pues es escasamente dolorosa (no más que una inyección intramuscular o una extracción sanguínea). • Cuánto dura: La técnica en sí no es compleja y se suele tardar entre 5 y 15 minutos. Ocasionalmente las dificultades técnicas pueden hacer que se sobrepase este tiempo. <p>2. Qué objetivos persigue: Estudiar la edad gestacional, el bienestar fetal, la madurez pulmonar fetal, la existencia de enfermedades metabólicas, de enfermedades infecciosas y la afectación del feto por isoinmunización y/o tratamiento del hidramnios, etc.</p>	
<p align="center">¿QUÉ RIESGOS TIENE?</p>	
<p>1. Riesgos generales: Aunque es una técnica segura, existen riesgos como desencadenamiento del parto y/o aborto, punción placentaria, punción fetal, desprendimiento placentario, punción del cordón, rotura de la bolsa de las aguas, infección, hemorragia materna. Estos riesgos ocurren en menos del 1 % de los casos. La técnica puede fracasar por no conseguir la extracción de líquido amniótico o por problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo. Estos riesgos son excepcionales (menos del 0,1 %).</p> <p>2. Riesgos personalizados: Además de los riesgos anteriormente citados por la/s enfermedad/es que padece puede presentar otras complicaciones.....</p> <p>3. Beneficios del procedimiento a corto y medio plazo: Detectar precozmente los aspectos definidos en los objetivos, e instaurar tratamiento adecuado.</p>	
<p align="center">¿QUÉ OTRAS ALTERNATIVAS HAY?</p>	
<p>No existen alternativas.</p>	
<p align="center">¿NOS AUTORIZA?</p>	
<p>Por este documento solicitamos su autorización para realizarle la intervención, y usar imágenes e información de su Historia Clínica con fines docentes o científicos, ya que está siendo atendido en un Hospital Universitario. Su anonimato será respetado.</p>	
<p align="center">DECLARACIONES Y FIRMAS</p>	
<p>Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda sobre su enfermedad, no dude en preguntarnos. Le atenderemos con mucho gusto. Le informamos que tiene derecho a revocar su decisión y retirar su consentimiento.</p> <p>Conforme a lo dispuesto en la LOPD (Ley de Protección de Datos) 15/1999 de 13 de diciembre se informa que sus datos serán objeto de tratamientos e incorporados a ficheros del área 5 Atención especializada con fines asistenciales, de gestión investigación científica y docencia. Solo podrán ser cedidos a organismos autorizados. Podrá ejercer el derecho a acceso, cancelación, rectificación y oposición en la Gerencia del Área</p> <p align="right">06.00</p>	

1. Relativo al paciente:

D./D.ª con D.N.I.
He sido informado/a suficientemente de la intervención que se me va a realizar, explicándome sus riesgos, complicaciones y alternativas; la he comprendido y he tenido el tiempo suficiente para valorar mi decisión. Por tanto, estoy satisfecho/a con la información recibida. Por ello, doy mi consentimiento para que se me realice dicha intervención por el médico responsable y/o médico residente supervisado por facultativo especialista. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno, sin que esta decisión repercuta en mis cuidados posteriores.

Sé que estoy siendo atendido en un Hospital Universitario. Autorizo SI ☐ NO ☐ para utilizar material gráfico o biológico resultado de la intervención; parte del material se guardará en un banco de tejidos para fines docentes y científicos, tratándose las muestras de forma confidencial y anónima, según dispone la legislación vigente.

Firma del paciente

Fecha: / /

2. Relativo al médico (cirujano):

Dr./Dra. he informado al paciente y/o al tutor o familiar del objeto y naturaleza de la intervención que se le va a realizar explicándole los riesgos, complicaciones y alternativas posibles.

Firma del médico

Fecha: / /

3. Relativo a los familiares y tutores:

El paciente D./Dña. no tiene capacidad para decidir en este momento.

D./D.ª con D.N.I. y en calidad de he sido informado/a suficientemente de la intervención que se le va a realizar. Por ello, doy expresamente mi consentimiento. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno.

Firma del tutor o familiar

Fecha: / /

06.00

Anexo 2.- Antibiograma para Streptococcus mitis / oralis aislado en cavidad amniótica en un caso de rotura prematura de membranas en semana 28 +6 de gestación. La gestante ingresó en semana 25 + 2 de gestación por rotura prematura de membranas, descartándose entonces infección mediante examen microbiológico del líquido amniótico. En semana 28 + 6, ante un empeoramiento analítico se decidió repetir la prueba encontrándose infección intraamniótica.

Hospital Universitario La Paz
SaludMadrid Comunidad de Madrid

No.MUESTRA: 11003577	PROCEDENCIA: M03E PARITORIOS P 3*	APELLIDOS: [REDACTED]
No.PETICION:	SERVICIO: OBSTETRICIA -HM-	NOMBRE: [REDACTED]
FECHA DE ENTRADA: 01/06/2011	PLANTA: M3P HAB/CAMA: 15A	No.HISTORIA: [REDACTED]
DOCTOR: [REDACTED]		
DIAGNOSTICO: NO CONSTA		TRATAMIENTO: NO CONSTA
OBSERVACIONES A LA MUESTRA:		
MUESTRA: LIQUI.AMNIOTICO.		LOCALIZACION:

ANALISIS: AEROBI/ANAEROB/OTROS

RESULTADO DEFINITIVO: FECHA DE RESULTADO: 03/06/2011

ANAEROBIOS: ESTERIL ()

AEROBIOS. SE AISLA: ()

(1) Streptococcus mitis /oralis /(strep
(1)

	Valoración CMI
PENICILINA	S 0.12
AMPICILINA	I 0.5
CEFUROXIMA	R 1
CEFOTAXIMA	S 0.5
CEFEPIME	S 0.5
MEROPENEM	S <=0.12
VANCOMICINA	S 0.5
TEICOPLANINA	S <=0.25
ERITROMICINA	S <=0.25
CLARITROMICINA.	S <=0.25
CLINDAMICINA	S <=0.12
TETRACICLINA	S 0.5
CIPROFLOXACINO	R 4
LEVOFLOXACINA	S 1
COTRIMOXAZOL	S <=,5/9.5
CLORAMFENICOL	S <=2
RIFAMPICINA	S <=0.5

* CMI en mcg/ml

Anexo 3.- Antibiógrama para Streptococcus anginosus aislado en cavidad amniótica en un caso de rotura prematura de membranas en una gestante de 25 + 1 semanas.

Hospital Universitario La Paz
SaludMadrid Comunidad de Madrid

No.MUESTRA: 11002221	PROCEDENCIA: M03E PARITORIOS P 3*	APELLIDOS: [REDACTED]
No.PETICION:	SERVICIO: OBSTETRICIA -HM-	NOMBRE: [REDACTED]
FECHA DE ENTRADA: 04/04/2011	PLANTA: M3P HAB/CAMA: 19B	No.HISTORIA: [REDACTED]
DOCTOR: DESCONOCIDO		
DIAGNOSTICO:		TRATAMIENTO:
OBSERVACIONES A LA MUESTRA:		
MUESTRA: LIQUIDAMNIOTICO.		LOCALIZACION:

ANALISIS: AEROB/ANAEROB/OTROS

RESULTADO DEFINITIVO: FECHA DE RESULTADO: 18/04/2011

AEROBIOS. SE AISLA: ()

(1) Streptococcus anginosus

	(1) Valoración CMI
PENICILINA	S <=0.03
AMPICILINA	S <=0.06
CEFUROXIMA	S <=0.12
CEFOTAXIMA	S <=0.03
CEFEPIME	S <=0.06
MEROPENEM	S <=0.12
VANCOMICINA	S 0.5
TEICOPLANINA	S <=0.25
ERITROMICINA	R 1
CLARITROMICINA.	S <=0.25
CLINDAMICINA	S <=0.12
CIPROFLOXACINO	S 0.5
LEVOFLOXACINA	S <=0.25
COTRIMOXAZOL	S <= 5/9.5
CLORAMFENICOL	S <=2
RIFAMPICINA	S <=0.5

* CMI en mcg/ml

ANAEROBIOS: ESTERIL ()

Anexo 4.- Antibiograma para *Ureaplasma urealyticum* aislado en cavidad amniótica en un caso de amenaza de parto pretérmino en una gestante de 25 + 6 semanas.

Hospital Universitario La Paz
SaludMadrid Comunidad de Madrid

No.MUESTRA: 11050610	PROCEDENCIA: M03E PARITORIOS P 3*	APELLIDOS: [REDACTED]
No.PETICION:	SERVICIO: OBSTETRICIA -HM-	NOMBRE: [REDACTED]
FECHA DE ENTRADA: 26/10/2011	PLANTA: M3P HAB/CAMA: 16A	No.HISTORIA: [REDACTED]
DOCTOR: [REDACTED]		
DIAGNOSTICO: NO CONSTA		TRATAMIENTO:
OBSERVACIONES A LA MUESTRA:		
MUESTRA: LIQUI.AMNIOTICO.		LOCALIZACION:

ANALISIS: MYCOPLASMA/UREAPLASMA
RESULTADO DEFINITIVO: FECHA DE RESULTADO: 31/10/2011

SE DETECTA ()

(1) *Ureaplasma urealyticum*

DOXICICLINA
OFLOXACINA
ROXITROMICINA

(1)
Valoración
CMI

S	
S	
S	

* CMI en mcg/ml

VIII BIBLIOGRAFIA

1. Protocolos SEGO: Definiciones Perinatológicas. Disponible en: <http://www.prosego.com>
2. Prats et al. Análisis de la problemática del parto prematuro. Una visión epidemiológica. En: L. Cabero Roura. Parto Prematuro. Madrid: Panamericana; 2004:1-10.
3. Protocolos SEGO: Rotura prematura de membranas. Disponible en: <http://www.prosego.com>
4. Protocolos SEGO: Amenaza de parto pretérmino. Disponible en: <http://www.prosego.com>
5. Gomez R, Romero R, Mazor M, Ghezzi F, David C, Yoon BH. The role of infection in preterm labor and delivery. In: Elder MG, Romero R, and Lamont R.F: Preterm labor. Churchill Livingstone, New York, NY 1997.
6. Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol.* 1992;79(3):351-7.
7. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas de salud. Disponible en: <http://www.who.int/whosis/whostat/es/index.html>
8. Sayres WG Jr. Preterm labor. *Am Fam Physician.* 2010 15;81(4):477-84.
9. Steer PJ. The epidemiology of preterm labour--why have advances not equated to reduced incidence? *BJOG.* 2006;113 Suppl 3:1-3.
10. Magdaleno F, Sancha M, López S, González A. Tratamiento tocolítico más allá de las 48 horas en la amenaza de parto pretérmino. *Folia Clinica en Obstetricia y Ginecologia.* 2011; edición especial.
11. Gilbert WM. The cost of preterm birth: the low cost versus high value of tocolysis. *BJOG.* 2006;113 Suppl 3:4-9.
12. Gilbert WM, Nesbitt NS, Danielsen B. The cost of prematurity: quantification by gestational age and birthweight. *Obstet Gynecol* 2003;102:488-92.
13. Wood NS, Costeloe K, Gibson AT, Hennessy EM, Marlow N, Wilkinson AR; EPICure Study Group. The EPICure study: growth and associated problems in children born at 25 weeks of gestational age or less. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88(6):F492-500.
14. Russell RB, Green NS, Steiner CA, Meikle S, Howse JL, Poschman K, Dias T, Potetz L, Davidoff MJ, Damus K, Petrini JR. Cost of hospitalization for preterm and low birth weight infants in the United States. *Pediatrics.* 2007;120(1):e1-9.
15. Zupancic JA, Richardson DK, Lee K, McCormick MC. Economics of prematurity in the era of managed care. *Clin Perinatol.* 2000;27(2):483-97.
16. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *Lancet.* 2002 9;360(9344):1489-97.
17. Li D, Liu L, Odouli R. Presence of depressive symptoms during early pregnancy and the risk of preterm delivery: a prospective cohort study. *Hum Reprod.* 2009;24(1):146-53.
18. Salafia CM, Ghidini A, Lopèz-Zeno JA, Pezzullo JC. Uteroplacental pathology and maternal arterial mean blood pressure in spontaneous prematurity. *J Soc Gynecol Investig.* 1998;5(2):68-71.
19. Korebrits C, Ramirez MM, Watson L, Brinkman E, Bocking AD, Challis JR. Maternal corticotropin-releasing hormone is increased with impending preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(5):1585-91.

20. Challis JR, Hooper S. Birth: outcome of a positive cascade. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1989;3(3):781-93.
21. Petraglia F, Imperatore A, Challis JR. Neuroendocrine mechanisms in pregnancy and parturition. *Endocr Rev.* 2010;31(6):783-816.
22. Smaill F. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;CD000490.
23. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG.* 2009;116(10):1315-24.
24. Jeffcoat M, Parry S, Sammel M, Clothier B, Catlin A, Macones G. Periodontal infection and preterm birth: successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. *BJOG* 2011;118:250–256.
25. Redline RW. Placental inflammation. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004;9(4):265-74.
26. Anum EA, Springel EH, Shriver MD, Strauss JF 3rd. Genetic contributions to disparities in preterm birth. *Pediatr Res.* 2009;65(1):1-9.
27. Menon R, Pearce B, Velez DR, Merialdi M, Williams SM, Fortunato SJ, Thorsen P. Racial disparity in pathophysiologic pathways of preterm birth based on genetic variants. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009 15;7:62.
28. Hitti J, Nugent R, Boutain D, Gardella C, Hillier SL, Eschenbach DA. Racial disparity in risk of preterm birth associated with lower genital tract infection. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007;21(4):330-7.
29. Salafia CM, López-Zeno JA, Sherer DM, Whittington SS, Minior VK, Vintzileos AM. Histologic evidence of old intrauterine bleeding is more frequent in prematurity. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(4):1065-70.
30. Lockwood CJ, Kuczyński E. Risk stratification and pathological mechanisms in preterm delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2001;15 Suppl 2:78-89.
31. Nemeth E, Tashima LS, Yu Z, Bryant-Greenwood GD. Fetal membrane distention: I. Differentially expressed genes regulated by acute distention in amniotic epithelial (WISH) cells. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1 Pt 1):50.
32. Warren JE, Nelson LM, Stoddard GJ, et al. Polymorphisms in the promoter region of the interleukin-10 (IL-10) gene in women with cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201:372.e1.
33. Jakobsson M, Gissler M, Paavonen J, Tapper AM. Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2009;114(3):504.
34. Shanbhag S, Clark H, Timmaraju V, Bhattacharya S, Cruickshank M. Pregnancy outcome after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2009;114(4):727.
35. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, Jun JK. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(5):1130.
36. Protocolos SEGO: Diagnóstico de corioamnionitis. Disponible en: <http://www.prosego.com>
37. Oyarzún E, Belmar C. Corioamnionitis: etiología, métodos de diagnóstico y tratamiento. En: Cabero L et. al. *Tratado de Ginecología, Obstetricia y Medicina de la Reproducción.* Madrid: Panamericana; 2003:607-14.
38. Smulian JC, Shen-Schwarz S, Vintzileos AM, et al. Clinical chorioamnionitis and histologic placental inflammation. *Obstet Gynecol* 1999; 94:1000.

39. Steel JH, O'donoghue K, Kennea NL, et al. Maternal origin of inflammatory leukocytes in preterm fetal membranes, shown by fluorescence in situ hybridisation. *Placenta* 2005; 26:672.
40. Lahra MM, Jeffery HE. A fetal response to chorioamnionitis is associated with early survival after preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:147.
41. Redline RW. Inflammatory response in acute chorioamnionitis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(1):20-5.
42. Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol.* 2002;7(4):259-74.
43. Cabero L, Sánchez MA. *Protocolos de medicina materno-fetal*. Tercera ed. Madrid: 2008:15-23.
44. Zalud I, Janas S. Risks of third-trimester amniocentesis. *J Reprod Med.* 2008;53(1):45-8.
45. Benshushan A, Tsafir A, Arbel R, Rahav G, Ariel I, Rojansky N. Listeria infection during pregnancy: a 10 year experience. *Isr Med Assoc J.* 2002;4(10):776-80.
46. Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, Redline RW. Term stillbirth caused by oral *Fusobacterium nucleatum*. *Obstet Gynecol.* 2010;115(2 Pt 2):442-5.
47. Lamont RF. El papel de la infección en la etiología y predicción del parto pretérmino. En: L. Cabero Roura. *Parto Prematuro*. Madrid: Panamericana; 2004:53-63.
48. Gratacós E, Figueras F, Barranco M, Ros R, Andreu A, Alonso PL, Cararach V. Prevalence of bacterial vaginosis and correlation of clinical to Gram stain diagnostic criteria in low risk pregnant women. *Eur J Epidemiol.* 1999;15(10):913-6.
49. Martínez de Tejada B, Coll O, de Flores M, Hillier SL, Landers DV. Prevalencia de vaginosis bacteriana en una población obstétrica de Barcelona. *Med Clin (Barc).* 1998 21;110(6):201-4.
50. Guise JM, Mahon S, Aickin M, Helfand M. Screening for Bacterial Vaginosis in Pregnancy. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK42659/>
51. Protocolos SEGO: Diagnóstico y tratamiento de las vulvovaginitis. Disponible en: <http://www.prosego.com>
52. Gómez R. Infección intrauterina y daño neurológico fetal. En: L. Cabero Roura. *Parto Prematuro*. Madrid: Panamericana; 2004:77-81.
53. O'callaghan ME, Maclennan AH, Gibson CS, McMichael GL, Haan EA, Broadbent J L, Goldwater PN, Dekker GA; for the Australian Collaborative Cerebral Palsy Research Group. Epidemiologic Associations With Cerebral Palsy. *Obstet Gynecol.* 2011;118(3):576-582.
54. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):194-202.
55. Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, Kim IO. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177(1):19-26.
56. Yoon BH, Park CW, Chaiworapongsa T. Intrauterine infection and the development of cerebral palsy. *BJOG.* 2003;110 Suppl 20:124-7.
57. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Gomez R, Medina L, Silva M, Chaiworapongsa T, Yoon BH, Ghezzi F, Lee W, Treadwell M, Berry SM, Maymon E, Mazor M, DeVore G. Fetal cardiac dysfunction in preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;16(3):146-57.

58. Shatrov JG, Birch SC, Lam LT, Quinlivan JA, McIntyre S, Mendz GL. Chorioamnionitis and cerebral palsy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):387-92.
59. Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, Ghezzi F, Berry SM, Qureshi F, Jacques SM, Kim JC, Kadar N, Romero R. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;11(1):18-25.
60. Osmanağaoğlu MA, Unal S, Bozkaya H. Chorioamnionitis risk and neonatal outcome in preterm premature rupture of membranes. *Arch Gynecol Obstet.* 2005;271(1):33-9.
61. Lee SE, Romero R, Jung H, Park C-W, Park JS, Yoon BH. The intensity of the fetal inflammatory response in intraamniotic inflammation with and without microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:294.e1-294.e6.
62. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, Han TR. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(3):675-81.
63. Wu YW, Colford JM Jr. Chorioamnionitis as a risk factor for cerebral palsy: A meta-analysis. *JAMA.* 2000 20;284(11):1417-24.
64. Dammann O, Leviton A. Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr Res.* 1997;42(1):1-8.
65. Dammann O, Leviton A. Infection remote from the brain, neonatal white matter damage, and cerebral palsy in the preterm infant. *Semin Pediatr Neurol.* 1998;5(3):190-201.
66. Haynes RL, Baud O, Li J, Kinney HC, Volpe JJ, Folkerth DR. Oxidative and nitrative injury in periventricular leukomalacia: a review. *Brain Pathol.* 2005;15(3):225.
67. Hartling L, Liang Y, Lacaze-Masmonteil T. Chorioamnionitis as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2012;97(1):F8-F17.
68. Di Naro E, Cromi A, Ghezzi F, Giocolano A, Caringella A, Loverro G. Myocardial dysfunction in fetuses exposed to intraamniotic infection: new insights from tissue Doppler and strain imaging. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(5):459.e1.
69. Letti Müller AL, Barrios Pde M, Kliemann LM, Valério EG, Gasnier R, Magalhães JA. Tei index to assess fetal cardiac performance in fetuses at risk for fetal inflammatory response syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36(1):26-31.
70. Arreaza M, Rojas JD, Molina S. Síndrome de respuesta inflamatoria fetal (FIRS): adaptación cardiovascular. *Rev Colomb Obstet Ginecol* 2011;62:71-81.
71. Lee SY, Leung CW. Histological chorioamnionitis - implication for bacterial colonization, laboratory markers of infection, and early onset sepsis in very-low-birth-weight neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(4):364-8.
72. Carroll SG, Papaioannou S, Davies ET, Nicolaides KH. Maternal assessment in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabor amniorrhexis. *Fetal Diagn Ther.* 1995;10(5):290-6.
73. Garite TJ, Freeman RK, Linzey E, Braley P. The use of amniocentesis in patients with premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1979; 54:226-230.

74. Garite TJ. Premature rupture of the membranes: the enigma of the obstetrician. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151:1001-1005.
75. Leigh J, Garite TJ. Amniocentesis in the management of preterm labor. *Obstet Gynecol* 1986; 67:500-506.
76. Garite TJ. Premature rupture of the membranes. In: *Maternal-fetal medicine*, 4th ed. Creasy RK, Resnick R (editors). Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1999. pp. 651-652.
77. Blackwell, Sean C; Berry, Stanley M. Role of amniocentesis for the diagnosis of subclinical intra-amniotic infection in preterm premature rupture of the membranes. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1999;11(6):541-7.
78. Gonik B, Cotton DB. The use of amniocentesis in preterm premature rupture of membranes. *Am J Perinatol* 1985; 2:21-24.
79. Vintzileos AM, Campbell WA, Nochimson DJ, Weinbaum PJ. Degree of oligohydramnios and pregnancy outcome in patients with premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1985; 66:162-167.
80. Gonik B, Bottoms SF, Cotton DB. Amniotic fluid volume as a risk factor in preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1985; 65:456-459.
81. Lao T, Chung V. Expectant management of preterm premature rupture of the membranes - the significance of oligohydramnios at presentation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 48:87-91.
82. Lacerte M, Bujold E, Audibert F, Mayrand MH. Amniocentesis for PPROM management: a feasibility study. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008;30(8):659-64.
83. McIntosh JJ, McHugh K, Haas DM. Difficulties in establishing routine amniocentesis for preterm labor evaluation. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(3):313-4.
84. Porreco RP, Heyborne KD, Shapiro H. Amniocentesis in the management of preterm premature rupture of the membranes: a retrospective cohort analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2008;21(8):573-9.
85. Le Bouar G, Lassel L, Poulain P. Markers of infection and inflammation in the amniotic fluid: therapeutic contribution of amniocentesis. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2002;31(7 Suppl):5S52-6.
86. Mazor M, HersHKovitz R, Ghezzi F, Maymon E, Horowitz S, Leiberman JR. Intraamniotic infection in patients with preterm labor and twin pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1996;75(7):624-7.
87. Romero R, Shamma F, Avila C, Jimenez C, Callahan R, Nore J, Mazor M, Brekus CA, Hobbins JC. Infection and labor. VI. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in twin gestations with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163(3):757-61.
88. Gómez R, Romero R, Nien JK, Medina L, Carstens M, Kim YM, Chaiworapongsa T, Espinoza J, González R. Idiopathic vaginal bleeding during pregnancy as the only clinical manifestation of intrauterine infection. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2005;18(1):31-7.
89. Lee SE, Romero R, Park CW, Jun JK, Yoon BH. The frequency and significance of intraamniotic inflammation in patients with cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(6):633.e1-8.
90. Hassan S, Romero R, Hendler I, Gomez R, Khalek N, Espinoza J, Nien JK, Berry SM, Bujold E, Camacho N, Sorokin Y. A sonographic short cervix as the only clinical manifestation of intra-amniotic infection. *J Perinat Med*. 2006;34(1):13-9.

91. Holst RM, Jacobsson B, Hagberg H, Wennerholm UB. Cervical length in women in preterm labor with intact membranes: relationship to intra-amniotic inflammation/microbial invasion, cervical inflammation and preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;28(6):768-74.
92. Kiefer DG, Keeler SM, Rust OA, Wayock CP, Vintzileos AM, Hanna N. Is midtrimester short cervix a sign of intraamniotic inflammation? *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(4):374.e1-5.
93. Gomez R, Romero R, Nien JK, Medina L, Carstens M, Kim YM, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Gonzalez R, Iams JD, Rojas I. Antibiotic administration to patients with preterm premature rupture of membranes does not eradicate intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007;20(2):167-73.
94. Mercer BM, Goldenberg R, Das AF, et al. What we have learned regarding antibiotic therapy for the reduction of infant morbidity after preterm premature rupture of the membranes. *Semin Perinatol.* 2003;27:217–230.
95. Oh KJ, Lee KA, Sohn YK, Park CW, Hong JS, Romero R, Yoon BH. Intraamniotic infection with genital mycoplasmas exhibits a more intense inflammatory response than intraamniotic infection with other microorganisms in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203:211.e1–211.e8.
96. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008 5;371(9606):75-84.
97. Ugwumadu A. Chorioamnionitis and mid-trimester pregnancy loss. *Gynecol Obstet Invest.* 2010;70(4):281-5.
98. Oh KJ, Lee SE, Jung H, Kim G, Romero R, Yoon BH. Detection of ureaplasmas by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with cervical insufficiency. *J Perinat Med.* 2010;38(3):261-8.
99. McElrath TF, Hecht JL, Dammann O, Boggess K, Onderdonk A, Markenson G, Harper M, Delpapa E, Allred EN, Leviton A; ELGAN Study Investigators. Pregnancy disorders that lead to delivery before the 28th week of gestation: an epidemiologic approach to classification. *Am J Epidemiol.* 2008 1;168(9):980-9.
100. Mitani M, Matsuda Y, Ono E, Akizawa Y, Ohta H. Prognosis in cervical insufficiency at less than 32 weeks of gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Mar 1;125(1):34-7.
101. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, Avila C, Mazor M, Callahan R, Sabo V, Athanassiadis AP, Hobbins JC. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(3):817-24.
102. Torricelli M, Voltolini C, Conti N, De Bonis M, Biliotti G, Picciolini E, Petraglia F. Inflammatory and infectious risk factors are associated with the response to tocolysis in patients with preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011 Jan;24(1):43-6.
103. Hanley ML, Vintzileos AM. Biophysical testing in premature rupture of the membranes. *Semin Perinatol.* 1996;20(5):418-25.
104. Miller JM Jr, Kho MS, Brown HL, Gabert HA. Clinical chorioamnionitis is not predicted by an ultrasonic biophysical profile in patients with premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 1990;76(6):1051-4.
105. Popowski T, Goffinet F, Batteux F, Maillard F, Kayem G. Prediction of maternofetal infection in preterm premature rupture of membranes: serum maternal markers. *Gynecol Obstet Fertil.* 2011;39(5):302-8.
106. Greksova K, Parrak V, Chovancova D, Stencl P, Oravec J, Marsik L, Sysak R, Fuchs D, Peskova Z, Borovsky M. Procalcitonin, neopterin and C-reactive protein in diagnostics of intrauterine infection and preterm delivery. *Bratisl Lek Listy.* 2009;110(10):623-6.

107. Torbé A. Maternal plasma procalcitonin concentrations in pregnancy complicated by preterm premature rupture of membranes. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:35782.
108. Newton ER. Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol.* 1993;36(4):795.
109. Locksmith GJ, Chin A, Vu T, Shattuck KE, Hankins GD. High compared with standard gentamicin dosing for chorioamnionitis: a comparison of maternal and fetal serum drug levels. *Obstet Gynecol.* 2005;105(3):473.
110. Ovalle A, Martínez MA, Kakarieka E, Gómez R, Rubio R, Valderrama O, Leyton H. Antibiotic administration in patients with preterm premature rupture of membranes reduces the rate of histological chorioamnionitis: a prospective, randomized, controlled study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;12(1):35-41.
111. Gabbay R, Yogev Y, Melamed N, Ben-Haroush A, Meizner I, Pardo J. Pregnancy outcome after third trimester amniocentesis: a single center experience. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011 11. In press.
112. Picone O, Senat MV, Rosenblatt J, Audibert F, Tachdjian G, Frydman R. Fear of pregnancy loss and fetal karyotyping: a place for third-trimester amniocentesis? *Fetal Diagn Ther.* 2008;23(1):30-5.
113. O'Donoghue K, Giorgi L, Pontello V, Pasquini L, Kumar S. Amniocentesis in the third trimester of pregnancy. *Prenat Diagn.* 2007;27(11):1000-4.
114. Hodor JG, Poggi SH, Spong CY, Goodwin KM, Vink JS, Pezzullo JC, Ghidini A. Risk of third-trimester amniocentesis: a case-control study. *Am J Perinatol.* 2006 Apr;23(3):177-80.
115. Abdel-Razeq SS, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Rosenberg VA, Dulay AT, Han CS, Werner EF, Thung S, Buhimschi CS. Interpretation of amniotic fluid white blood cell count in "bloody tap" amniocenteses in women with symptoms of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):344-54.
116. Choavaratana R, Uer-Areewong S, Mekanantakoccol S: Fetomaternal transfusion in normal pregnancy and during delivery. *J Med Assoc Thailand* 80:96, 1997.
117. Malcus P, Björklund LJ, Lilja M, Teleman P, Laurini R: Massive Feto-Maternal Hemorrhage: Diagnosis by Cardiotocography, Doppler Ultrasonography and ST Waveform Analysis of Fetal Electrocardiography .*Fetal Diagn Ther* 2006;21:8-12.
118. Sueters M, Arabin B, Oepkes D. Doppler sonography for predicting fetal anemia caused by massive fetomaternal hemorrhage. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(2):186.
119. Ovalle A, Gómez R, Martínez MA, Kakarieka E, Fuentes A, Aspillaga C, Ferrand P, Ramírez C. Invasión microbiana de la cavidad amniótica en la rotura de membranas de pretérmino. Resultados maternoneonatales y patología placentaria según microorganismo aislado. *Rev Méd Chile* 2005;133:51-61.
120. Zanardo V, Vedovato S, Suppiej A, Trevisanuto D, Migliore M, Di Venosa B, Chiarelli S. Histological inflammatory responses in the placenta and early neonatal brain injury. *Pediatr Dev Pathol.* 2008 Sep-Oct;11(5):350-4.
121. Strunk T, Doherty D, Jacques A, Simmer K, Richmond P, Kohan R, Charles A, Burgner D. Histologic chorioamnionitis is associated with reduced risk of late-onset sepsis in preterm infants. *Pediatrics.* 2012;129(1):e134-41.
122. DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gómez R, Kim CJ, Seok KS, Gotsch F, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Sanders K, Bik EM, Chaiworapongsa T, Oyarzún E, Relman DA. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2010 1;64(1):38-57.

123. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, Kim CJ, Erez O, Edwin S, Relman DA. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS One*. 2008 26;3(8):e3056.
124. DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012;17(1):2-11.
125. Hitti J, Riley DE, Krohn MA, et al. Broad-spectrum bacterial rDNA polymerase chain reaction assay for detecting amniotic fluid infection among women in premature labor. *Clin Infect Dis* 1997;24:1228e32.
126. Markenson GR, Martin RK, Tillotson-Criss M, Foley KS, Stewart Jr RS, Yancey M. The use of the polymerase chain reaction to detect bacteria in amniotic fluid in pregnancies complicated by preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1471e7.
127. Han YW, Shen T, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009;47:38e47.
128. Marconi C, de Andrade Ramos BR, Peracoli JC, Donders GG, da Silva MG. Amniotic fluid interleukin-1 beta and interleukin-6, but not interleukin-8 correlate with microbial invasion of the amniotic cavity in preterm labor. *Am J Reprod Immunol* 2011;65:549e56.
129. Jalava J, Mantymaa ML, Ekblad U, et al. Bacterial 16S rDNA polymerase chain reaction in the detection of intra-amniotic infection. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:664e9.
130. Blanchard A, Hamrick W, Duffy L, Baldus K, Cassell GH. Use of the polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma fermentans* and *Mycoplasma genitalium* in the urogenital tract and amniotic fluid. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl.1):S272e9.
131. Blanchard A, Hentschel J, Duffy L, Baldus K, Cassell GH. Detection of *Ureaplasma urealyticum* by polymerase chain reaction in the urogenital tract of adults, in amniotic fluid, and in the respiratory tract of newborns. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl. 1):S148e53.
132. Yoon BH, Romero R, Kim M, et al. Clinical implications of detection of *Ureaplasma urealyticum* in the amniotic cavity with the polymerase chain reaction. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1130e7.
133. Yoon BH, Romero R, Lim JH, et al. The clinical significance of detecting *Ureaplasma urealyticum* by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:919e24.
134. Bujold E, Morency AM, Rallu F, et al. Bacteriology of amniotic fluid in women with suspected cervical insufficiency. *J Obstet Gynaecol Can* 2008;30:882e7.
135. Wenstrom KD, Andrews WW, Bowles NE, Towbin JA, Hauth JC, Goldenberg RL. Intrauterine viral infection at the time of second trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1998;92:420e4.
136. Baschat AA, Towbin J, Bowles NE, Harman CR, Weiner CP. Prevalence of viral DNA in amniotic fluid of low-risk pregnancies in the second trimester. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003;13:381e4.
137. Miller JL, Harman C, Weiner C, Baschat AA. Perinatal outcomes after second trimester detection of amniotic fluid viral genome in asymptomatic patients. *J Perinat Med* 2009;37:140e3.
138. Bruner JP, Elliott JP, Kilbride HW, Garite TJ, Knox GE. *Candida* chorioamnionitis diagnosed by amniocentesis with subsequent fetal infection. *Am J Perinatol* 1986;3:213e8.
139. Kellogg SG, Davis C, Benirschke K. *Candida parapsilosis*: previously unknown cause of fetal infection. A report of two cases. *J Reprod Med* 1974;12:159e62.

140. Parveen N, Munir AA, Din I, Majeed R. Frequency of vaginal candidiasis in pregnant women attending routine antenatal clinic. *J Coll Physicians Surg Pak* 2008;18:154e7.
141. Chaim W, Mazor M, Wiznitzer A. The prevalence and clinical significance of intraamniotic infection with *Candida* species in women with preterm labor. *Arch Gynecol Obstet* 1992;251:9e15.
142. Misenhimer HR, Garcia-Bunuel R. Failure of intrauterine contraceptive device and fungal infection in the fetus. *Obstet Gynecol* 1969;34:368e72.
143. Romero R, Reece EA, Duff GW, Coultrip L, Hobbins JC. Prenatal diagnosis of *Candida albicans* chorioamnionitis. *Am J Perinatol* 1985;2:121e2.
144. Whyte RK, Hussain Z, deSa D. Antenatal infections with *Candida* species. *Arch Dis Child* 1982;57:528e35.
145. Straka M, Dela Cruz W, Blackmon C, Johnson O, Stassen S, Streitman D, Golden S, Stamilio D. Rapid detection of group B streptococcus and *Escherichia coli* in amniotic fluid using real-time fluorescent PCR. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2004 Sep-Dec;12(3-4):109-14.
146. Rodríguez N, Fernandez C, Zamora Y, Berdasquera D, Rivera JA. Detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in amniotic fluid: association with pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011 Jan;24(1):47-50.
147. Aaltone R, Heikkinen J, Vahlberg T, Jensen JS, Alanen A. Local inflammatory response in choriodecidua induced by *Ureaplasma urealyticum*. *BJOG* 2007;114:1432–1435.
148. Gerber S, Vial V, Hohlfeld P, Witkin SS. Detection of *Ureaplasma urealyticum* in second-trimester amniotic fluid by PCR correlates with subsequent preterm labor and delivery. *J Infect Dis* 2003;187:518–521.
149. Gonzalez E, Gene A, Ferrer I, Borrás M, Lailla J. Value of endocervical *Ureaplasma* species colonization as a marker of preterm delivery. *Gynecol Obstet Invest* 2006;61:119–123.
150. Gauthier S, Tétu A, Himaya E, Morand M, Chandad F, Rallu F, Bujold E. The origin of *Fusobacterium nucleatum* involved in intra-amniotic infection and preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011 Nov;24(11):1329-32.
151. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, McKaig R, Beck J. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996;67:1103–1113.
152. Vergnes JN, Sixou M. Preterm low birth weight and maternal periodontal status: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:135 e1–e7.
153. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation* 2008;117:3118–3125.
154. Bahrani-Mougeot FK, Paster BJ, Coleman S, Ashar J, Barbuto S, Lockhart PB. Diverse and novel oral bacterial species in blood following dental procedures. *J ClinMicrobiol* 2008;46:2129–2132.
155. Han YW, Redline RW, Li M, Yin L, Hill GB, McCormick TS. *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: implication of oral bacteria in preterm birth. *Infect Immun* 2004;72:2272–2279.
156. Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *BJOG* 2002;109:527–533.

157. Romero R, Quintero R, Nores J, Avila C, Mazor M, Hanaoka S, Hagay Z, Merchant L, Hobbins JC. Amniotic fluid white blood cell count: a rapid and simple test to diagnose microbial invasion of the amniotic cavity and predict preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;165:821-30.
158. Gomez R, Romero R, Galasso M, Behnke E, Insunza A, Cotton DB. The value of amniotic fluid interleukin-6, white blood cell count, and gram stain in the diagnosis of microbial invasion of the amniotic cavity in patients at term. *Am J Reprod Immunol.* 1994;32(3):200-10.
159. Yoon BH, Yang SH, Jun JK, Park KH, Kim CJ, Romero R. Maternal blood C-reactive protein, white blood cell count, and temperature in preterm labor: a comparison with amniotic fluid white blood cell count. *Obstet Gynecol.* 1996;87(2):231-7.
160. Sampson JE, Theve RP, Blatman RN, Shipp TD, Bianchi DW, Ward BE, Jack RM. Fetal origin of amniotic fluid polymorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176:77-81.
161. Mitchell MD, Trautman MS, Dudley DJ. Cytokine networking in the placenta. *Placenta* 1993;14:249-75.
162. Contrino J, Krause PJ, Slover N, Kreutzer D. Elevated interleukin-1 expression in human neonatal neutrophils. *Pediatr Res* 1993;34:249-52.
163. Alvarez JR. Evaluación del ácido láctico, calcio, fósforo y magnesio para el diagnóstico diferencial de las meningitis infantiles. *Rev Esp Ped* 1988; 44 (262): 356-360.
164. Wiberg-Itzel E, Pettersson H, Andolf E, Hansson A, Winbladh B, Akerud H. Lactate concentration in amniotic fluid: a good predictor of labor outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010 Sep;152(1):34-8.
165. Romero R, Jimenez C, Lohda AK, Nores J, Hanaoka S, Avila C, Callahan R, Mazor M, Hobbins JC, Diamond MP. Amniotic fluid glucose concentration: a rapid and simple method for the detection of intraamniotic infection in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163(3):968-74.
166. Dildy GA, Pearlman MD, Smith LG, Tortolero-Luna G, Faro S, Cotton DB. Amniotic fluid glucose concentration: a marker for infection in preterm labor and preterm premature rupture of membranes. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1994;1(4):166-72.
167. Greig PC, Ernest JM, Teot L. Low amniotic fluid glucose levels are a specific but not a sensitive marker for subclinical intrauterine infections in patients in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(2):365-70.
168. Hussey MJ, Levy ES, Pombar X, Meyer P, Strassner HT. Evaluating rapid diagnostic tests of intra-amniotic infection: Gram stain, amniotic fluid glucose level, and amniotic fluid to serum glucose level ratio. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:650-6.
169. Kirshon B, Rosenfeld B, Mari G, Belfort M. Amniotic fluid glucose and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164(3):818-20.
170. Klitz RJ, Burke MS, Porreco RP. Amniotic fluid glucose as a marker for intra-amniotic infection. *Obstet Gynecol.* 1991;78:618-622.
171. Ananth CV, Vintzileos AM. Trends in cesarean delivery at preterm gestation and association with perinatal mortality. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(6):505.e1-8.
172. Grant A, Glazener CM. Elective caesarean section versus expectant management for delivery of the small baby. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;(2):CD000078.

173. Leviton A, Fenton T, Kuban KC, Pagano M. Labor and delivery characteristics and the risk of germinal matrix hemorrhage in low birth weight infants. *J Child Neurol.* 1991;6(1):35-40.
174. Anderson GD, Bada HS, Sibai BM, Harvey C, Korones SB, Magill HL, Wong SP, Tullis K. The relationship between labor and route of delivery in the preterm infant. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;158(6 Pt 1):1382-90.
175. Anderson GD, Bada HS, Shaver DC, Harvey CJ, Korones SB, Wong SP, Arheart KL, Magill HL. The effect of cesarean section on intraventricular hemorrhage in the preterm infant. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;166(4):1091-9; discussion 1099-101.
176. Shaver DC, Bada HS, Korones SB, Anderson GD, Wong SP, Arheart KL. Early and late intraventricular hemorrhage: the role of obstetric factors. *Obstet Gynecol.* 1992;80(5):831-7.
177. Ment LR, Oh W, Ehrenkranz RA, Philip AG, Duncan CC, Makuch RW. Antenatal steroids, delivery mode, and intraventricular hemorrhage in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172(3):795-800.
178. Baud O, Ville Y, Zupan V, Boithias C, Lacaze-Masmonteil T, Gabilan JC, Frydman R, Dehan M. Are neonatal brain lesions due to intrauterine infection related to mode of delivery? *Br J Obstet Gynaecol.* 1998;105(1):121-4.
179. Kuban K, Sanocka U, Leviton A, Allred EN, Pagano M, Dammann O, Share J, Rosenfeld D, Abiri M, DiSalvo D, Doubilet P, Kairam R, Kazam E, Kirpekar M, Schonfeld S. White matter disorders of prematurity: association with intraventricular hemorrhage and ventriculomegaly. The Developmental Epidemiology Network. *J Pediatr.* 1999;134(5):539-46.
180. Hansen A, Leviton A. Labor and delivery characteristics and risks of cranial ultrasonographic abnormalities among very-low-birth-weight infants. The Developmental Epidemiology Network Investigators. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(4):997-1006.
181. Qiu H, Paneth N, Lorenz JM, Collins M. Labor and delivery factors in brain damage, disabling cerebral palsy, and neonatal death in low-birth-weight infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(4):1143-9.
182. Malloy MH, Onstad L, Wright E. The effect of cesarean delivery on birth outcome in very low birth weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Obstet Gynecol.* 1991 Apr;77(4):498-503.
183. Neu J, Weiss MD. Necrotizing enterocolitis: pathophysiology and prevention. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1999;23(5 Suppl):S13.
184. Hunter CJ, Upperman JS, Ford HR, Camerini V. Understanding the susceptibility of the premature infant to necrotizing enterocolitis (NEC). *Pediatr Res.* 2008;63(2):117.
185. Morriss FH Jr, Moore M, Gibson T, West MS. Motility of the small intestine in preterm infants who later have necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* 1990;117(1 Pt 2):S20.
186. Bauer CR, Morrison JC, Poole WK, Korones SB, Boehm JJ, Rigatto H, Zachman RD. A decreased incidence of necrotizing enterocolitis after prenatal glucocorticoid therapy. *Pediatrics.* 1984;73(5):682.
187. Halac E, Halac J, BéguéEF, Casañas JM, Indiveri DR, Petit JF, Figueroa MJ, Olmas JM, Rodríguez LA, Obregón RJ. Prenatal and postnatal corticosteroid therapy to prevent neonatal necrotizing enterocolitis: a controlled trial. *J Pediatr.* 1990;117(1 Pt 1):132.
188. Kuperman AA, Kenet G, Papadakis E, Brenner B. Intraventricular hemorrhage in preterm infants: coagulation perspectives. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(7):730-6.

189. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* 1978;92(4):529–534.
190. Viscardi RM. Perinatal inflammation and lung injury. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012 Feb;17(1):30-5.
191. AndrewsWW, Goldenberg RL, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama preterm birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23- to 32-week preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:803e8.
192. Kaukola T, Tuimala J, Herva R, Kingsmore S, Hallman M. Cord immunoproteins as predictors of respiratory outcome in preterm infants. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:100.e1e8.
193. Lahra MM, Beeby P, Jeffery HE. Maternal versus fetal inflammation and respiratory distress syndrome: a 10-year hospital cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009;94:F13e6.
194. Lee J, Oh KJ, Park CW, Park JS, Jun JK, Yoon BH. The presence of funisitis is associated with a decreased risk for the development of neonatal respiratory distress syndrome. *Placenta* 2011;32:235e40.
195. Ogunyemi D, Murillo M, Jackson U, Hunter N, Alperson B. The relationship between placental histopathology findings and perinatal outcome in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003;13:102e9.
196. Richardson BS, Wakim E, daSilva O, Walton J. Preterm histologic chorioamnionitis: impact on cord gas and pH values and neonatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1357e65.
197. Viscardi RM, Muhumuza CK, Rodriguez A, et al. Inflammatory markers in intrauterine and fetal blood and cerebrospinal fluid compartments are associated with adverse pulmonary and neurologic outcomes in preterm infants. *Pediatr Res* 2004;55:1009e17.
198. Lahra MM, Beeby PJ, Jeffery HE. Intrauterine inflammation, neonatal sepsis, and chronic lung disease: a 13-year hospital cohort study. *Pediatrics* 2009;123:1314e9.
199. Redline RW, Wilson-Costello D, Hack M. Placental and other perinatal risk factors for chronic lung disease in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 2002;52:713e9.
200. Kent A, Dahlstrom JE. Chorioamnionitis/funisitis and the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Paediatr Child Health* 2004;40:356e9.
201. Wu HC, Shen CM, Wu YY, Yuh YS, Kua KE. Subclinical histologic chorioamnionitis and related clinical and laboratory parameters in preterm deliveries. *Pediatr Neonatol.* 2009;50(5):217-21.